UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1955 – N° 90

RECHERCHES SUR L'HYDRAZIDE DE L'ACIDE ISONICOTINIQUE ET QUELQUES SUBSTANCES PYRIDINIQUES D'INTÉRÊT BIOLOGIQUE

Travail effectué au Laboratoire de Chimie biologique et médicale
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
(Professeur F. TAYEAU)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le Vendredi 22 Juillet 1955

PAR

Jean-Max-Louis SEGONNE

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE PRINCIPALE DU SERVICE DE SANTÉ
DE LA MARINE ET DES TROUPES COLONIALES
DIPLÔMÉ DE MÉDECINE TROPICALE
CERTIFIÉ D'ÉTUDES SPÉCIALES DE SÉROLOGIE

Né à Béziers (Hérault), le 1er Mars 1930.

Examinateurs de la Thèse :

MM. TAYEAU, professeur.....	*Président*	
TRAISSAC, professeur	*Juges*	
PAUTRIZEL, professeur.....	*Juges*	
NEUZIL, maître de conférences agrégé	*Juges*	

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE

1955

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547324_0042

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1955 – N° 90

RECHERCHES SUR L'HYDRAZIDE DE L'ACIDE ISONICOTINIQUE ET QUELQUES SUBSTANCES PYRIDINIQUES D'INTÉRÊT BIOLOGIQUE

Travail effectué au Laboratoire de Chimie biologique et médicale
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
(Professeur F. TAYEAU)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le Vendredi 22 Juillet 1955

PAR

Jean-Max-Louis SEGONNE

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE PRINCIPALE DU SERVICE DE SANTÉ
DE LA MARINE ET DES TROUPES COLONIALES
DIPLÔMÉ DE MÉDECINE TROPICALE
CERTIFIÉ D'ÉTUDES SPÉCIALES DE SÉROLOGIE

Né à Béziers (Hérault), le 1er Mars 1930.

Examinateurs de la Thèse

MM. TAYEAU, professeur..... *Président*
TRAISSAC, professeur .....
PAUTRIZEL, professeur..... *Juges*
NEUZIL, maître de conférences agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE

1955

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPÉRIÉ, CHELLE.
DOYEN : M. PORTMANN. — **ASSESSEUR** : M. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, CHARRIER, DUBREUIL, CRUCHET, PERRENS

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	CREYX / BROUSTET
Clinique chirurgicale	PAPIN / MASSÉ
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE
Clinique gynécologique	MAGENDIE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY
Anatomie	DUFOUR
Anatomie générale et histologie	MAYER
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIÉCHAUD
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLÉE
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	REBOUL
Chimie	MESNARD
Matière médicale	GOLSE
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN
Zoologie et parasitologie	SIGALAS

	MM.
Pathologie générale et expérimentale	SARIC
Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	POUYANNE
Clinique médicale et des maladies infectieuses	AUBERTIN
Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Botanique et cryptogamie	GIRARD
Thérapeutique	F.-J.TRAISSAC
Hydrologie thérapeutique et climatologie	DUBARRY

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL :

M. BLANQUET (Section Pharmacie)

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. MAHON (Obstétrique), PAUTRIZEL (Parasitologie), Mlle ROUGIER (Physiologie), M. MOUSTARDIER (Bactériologie)

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.
Anatomie pathologique	LÉGER
Anatomie	RIGAUD
Biochimie médicale	NEUZIL
Pathologie expérimentale	FAURE

	MM.
Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE
Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER / QUILICHINI
Pharmacie (3e Section)	CAZAUX

CHARGÉ DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ :

M. STOLL (Histologie)

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Médecine générale	BERGOUIGNAN / LENG-LÉVY / MORETTI / LAVIGNOLLE
Chirurgie générale	LAUMONIER / CHAVANNAZ / VILLAR / TINGAUD / DEPAULIS
Obstétrique	CHASTRUSSE / FAUGÈRE

	MM.
Ophtalmologie	BESSIÈRE
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Pédiatrie et puériculture	VERGER
Médecine légale et médecine du travail	L'ÉPÉE
Electro-radiologie	LACHAPÈLE
Odonto-stomatologie	BENOIT
Urologie	LANGE

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	LAUMONIER
Accouchements	CHASTRUSSE
Puériculture	VERGER / PÉRY
Législation pharmaceutique	COUSTOU
Anatomie	CABANIÉ
Cryptogamie	LAUBIE
Obstétricie sociale	MAHON

	MM.
Organographie et physiologie végétale	TEMPÈRE
Chimie biologique analytique	MARQUEVIELLE
Chimie analytique	BABIN
Pathologie chirurgicale	LAUMONIER / VILLAR
Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Physiologie	BENELLI
Toxicologie et Hygiène	Mlle LARCEBAU

Le Secrétaire principal de la Faculté : GAYRAUD

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R.UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MA FEMME

A MON PÈRE, A MA MÈRE

A MA GRAND'MÈRE

A MA BELLE-MÈRE

A MES AMIS

A MES CAMARADES DU LABORATOIRE
DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE BORDEAUX

A MES CAMARADES DE L'ÉCOLE DE SANTÉ NAVALE

A NOS PROFESSEURS ET AUX OFFICIERS
DE L'ÉCOLE PRINCIPALE DU SERVICE DE SANTÉ
DE LA MARINE ET DES TROUPES COLONIALES

A NOS MAITRES DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL DE 1re CLASSE TABET

DIRECTEUR DE L'ÉCOLE PRINCIPALE
DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE ET DES TROUPES COLONIALES
SPÉCIALISTE DES HÔPITAUX MARITIMES
COMMANDEUR DE LA LÉGION D'HONNEUR
COMMANDEUR DE L'ORDRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE
OFFICIER DU MÉRITE MARITIME

A MONSIEUR LE MÉDECIN EN CHEF DE 1re CLASSE CONSTANS

SOUS-DIRECTEUR DE L'ÉCOLE PRINCIPALE
DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE ET DES TROUPES COLONIALES
SPÉCIALISTE DES HÔPITAUX MARITIMES
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
CROIX DE GUERRE 1939-1945

A NOS JUGES

MONSIEUR LE DOCTEUR E. NEUZIL

MAÎTRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ DE BIOCHIMIE MÉDICALE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

Nous vous devons notre initiation à la recherche, et nous conserverons des trois années pendant lesquelles vous avez dirigé notre travail, le plus agréable souvenir.
Nous voudrions que ce travail fût digne du Maître qui nous l'a inspiré.

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. PAUTRIZEL

DOCTEUR ÈS SCIENCES

DIRECTEUR DU LABORATOIRE DÉPARTEMENTAL DE SÉROLOGIE

EXPERT DE L'ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ

CROIX DE GUERRE 1939-1945

OFFICIER D'ACADÉMIE

Nous avons profité de son brillant enseignement.
Témoignage de profonde gratitude.

MONSIEUR LE PROFESSEUR F.-J. TRAISSAC

PROFESSEUR DE THÉRAPEUTIQUE

MÉDECIN DES HÔPITAUX

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

OFFICIER D'ACADÉMIE

Qui a bien voulu nous faire l'honneur de siéger dans notre jury.
Hommage respectueux.

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR F. TAYEAU

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Nous conserverons un excellent souvenir de notre séjour dans votre laboratoire, où vous nous avez toujours témoigné la plus grande bienveillance.

Nous sommes aujourd'hui très honoré de vous avoir comme président de notre jury de thèse, et nous tenons à vous assurer de notre respectueuse reconnaissance.

RECHERCHES SUR L'HYDRAZIDE DE L'ACIDE *ISO*NICOTINIQUE ET QUELQUES SUBSTANCES PYRIDINIQUES D'INTÉRÊT BIOLOGIQUE

INTRODUCTION

Il est classique de grouper les médicaments selon leur différente origine : médicaments d'origine végétale, médicaments d'origine animale, médicaments d'origine minérale et médicaments organiques purement « chimiques », le plus souvent obtenus par synthèse. Ces deux derniers groupes constituent la base de la chimiothérapie.

La thérapeutique moderne se caractérise par une prédominance de plus en plus marquée de la chimiothérapie; les immenses progrès réalisés par la chimie organique depuis un siècle se reflètent dans la pharmacodynamie actuelle, et l'on observe des relations de plus en plus étroites entre ces deux disciplines : de nouveaux chapitres de la chimie organique ont été ouverts uniquement pour répondre à des préoccupations thérapeutiques. La constitution chimique de la plupart des médicaments du règne végétal est maintenant connue, et chaque année nous apporte de nouveaux exemples du remplacement d'une drogue végétale par son principe actif fabriqué de toutes pièces au laboratoire, ou par une substance voisine, également synthétique, et dont les propriétés présentent des avantages par rapport au produit naturel.

Il faut remonter à la plus haute antiquité pour trouver les premiers fondements de la chimiothérapie, mais ce sont presque exclusivement des composés minéraux (arsenic,

mercure, phosphore, antimoine...) qu'employaient les médecins grecs ou arabes et leurs continuateurs médiévaux.

L'utilisation des produits rentrant dans le cadre de la chimie organique est plus récente et commence en fait avec l'ère pastorienne qui nous apporte les premiers antiseptiques organiques : phénol, formol et crésol. Dès la fin du XIX[e] siècle, de nombreux chercheurs essayent de substituer à ces substances, trop toxiques pour être utilisées *in vivo*, des produits plus actifs et mieux tolérés.

C'est dans le domaine de la chimiothérapie antibactérienne et antiparasitaire que les premières victoires furent remportées.

A l'orée du XX[e] siècle, BERZÉLIUS apporte au monde médical les acides méthylarsiniques, ouvrant la voie aux magnifiques travaux d'ERHLICH : l'arsénobenzol marque, en 1907, un très notable progrès dans la thérapeutique antitréponémique, mais le 606 est dépassé bientôt par le novarsénobenzol ou 914. Ces deux composés sont également actifs sur les trypanosomes et la thérapeutique des trypanosomiases s'enrichit bientôt des découvertes de l'Ecole française : FOURNEAU synthétise le stovarsol et l'orsanine, tandis qu'aux Etats-Unis HEIDELBERGER introduit la tryparsamide. Ces recherches initiales conduisent progressivement les chercheurs à orienter leur activité sur les colorants dérivés de la benzidine (NICOLLE et MESNIL) et sur les uréides symétriques (205 BAYER et, en France, 309 F de FOURNEAU). Les efforts des chimistes ne sont pas toujours suivis de succès : si la syntaline de VON JANCSO s'est montrée peu efficace, elle a cependant été le point de départ des travaux qui ont conduit aux agents si actifs que nous possédons aujourd'hui, et notamment aux diamidines.

Dans la lutte antipaludique, la quinine traditionnelle a été progressivement remplacée par des produits de synthèse renfermant le même noyau quinoléinique (plasmoquine, nivaquine), mais on s'aperçut assez rapide-

ment que l'action schizonticide et gamétocide n'était pas exclusive de cette famille chimique : les dérivés de l'acridine (quinacrine) ont connu leur heure de succès mais sont, de nos jours, remplacés par des composés possédant le groupement diguanide (paludrine) ou par des aminopyramidines (malocide).

La thérapeutique des affections bactériennes, après quelques tentatives peu fructueuses (colorants de la série du triphénylméthane et acridines), connut son véritable essor à partir de 1935, date à laquelle Domagk décrit les propriétés antistreptococciques de la sulfamido-chrysoïdine. La découverte par Tréfouel, Nitti et Bovet, du mode d'action du prontosil et de l'activité du *p*-aminophénylsulfamide (1162 F) se traduisit bientôt par l'acquisition d'un vaste arsenal de composés sulfamidés, et plus encore introduisit pour la première fois en thérapeutique la notion d' « antimétabolite » qui devait s'avérer si précieuse.

L'activité des laboratoires de recherches consacrés à la chimiothérapie ne s'est évidemment pas limitée aux médicaments destinés à combattre les maladies infectieuses ou parasitaires : les anesthésiques locaux de synthèse, les barbituriques, les antihistaminiques, les ganglioplégiques, pour ne citer que quelques grands chapitres, constituent des étapes marquantes de l'évolution de la chimiothérapie.

Le traitement chimique de la tuberculose apparaissait jusqu'à ces dernières années peu favorisé, malgré des recherches intensives : les sels d'or, l'acide chaulmoogrique et ses dérivés ne pouvaient être considérés qu'avec la valeur de simples thérapeutiques d'appoint. La découverte des sulfamides suscita plus d'espoirs dans ce domaine que de résultats concrets, malgré l'action incontestable de certaines sulfones. Les sulfamides apparaissent cependant indirectement responsables de la découverte des propriétés tuberculostatiques de l'acide *p*-amino-salicylique (Lehmann, 1946) et, par l'intermédiaire des sulfamides et des thiosemicarbazones, de l'introduction en thérapeutique

de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique (fin 1951, début 1952). Cette dernière substance reste de nos jours le produit le plus actif sur le B. K. et transforme, en association avec la streptomycine et le P. A. S., l'évolution et le pronostic de cette affection.

Tandis que, dans tous les pays, les médecins confirmaient sur le plan clinique l'action tuberculostatique de l'isoniazide, le mécanisme d'action du nouveau médicament restait encore fort obscur. C'est alors que M. le Maître de Conférences agrégé Neuzil nous proposa d'effectuer, en vue de notre thèse inaugurale, des recherches dans ce domaine, et depuis 1953 nous avons travaillé sous sa direction au Laboratoire de chimie biologique et médicale de la Faculté de médecine et de pharmacie de Bordeaux, où M. le Professeur Tayeau nous a fait l'honneur de bien vouloir nous accueillir.

M. Neuzil nous avait tout d'abord proposé de réaliser une étude expérimentale à la fois chimique et biologique de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique : mais il nous est apparu rapidement que notre plan initial ne pourrait être réalisé totalement dans le temps dont nous disposions. Aussi avons-nous limité nos investigations à l'étude de la réactivité chimique de l'I. N. H.; nous verrons d'ailleurs que les réactions chimiques auxquelles participe l'isoniazide constituent un substratum important pour l'interprétation du mode d'action du tuberculostatique.

Le noyau pyridinique qui constitue le squelette de l'I. N. H. se retrouve dans plusieurs composés d'intérêt biologique, notamment dans la structure des vitamines P P et B_6 : aussi nos expériences ont-elles débordé souvent le cadre de l'isoniazide et plusieurs pages de notre travail sont consacrées à ces différentes substances pyridiniques.

Notre travail n'aurait pas été possible sans les conseils, les encouragements et les concours dont nous avons bénéficié.

Nous voulons tout d'abord assurer M. le Professeur Tayeau de notre profonde gratitude. Au début de nos études médicales, il a su par son brillant enseignement nous faire aimer la chimie médicale; en nous acceptant dans son laboratoire, où tous profitent de ses grandes connaissances et de son amabilité, il nous a permis de connaître la « recherche ».

M. le Maître de Conférences agrégé Neuzil nous a initié au travail de laboratoire et, après nous les avoir inspirées, il nous a guidé pas à pas dans nos recherches; nous avons bénéficié de son expérience biochimique et de son érudition scientifique, ainsi que du climat qu'il sait créer entre maître et élève.

Nous voudrions également remercier M. Marquevielle, Chef de travaux, dont l'expérience du laboratoire nous a été précieuse; notre camarade d'études, M. Breton, qui nous a toujours si aimablement aidé et qui a collaboré à certains de nos travaux; M. Le Van Thoï, Chef de laboratoire à l'Institut du Pin, qui nous a permis d'effectuer dans son laboratoire la mesure de nombreux points de fusion. M. le Docteur Brisou, ex-agrégé du corps de santé de la marine, a bien voulu réaliser l'étude du pouvoir tuberculostatique de nombreux dérivés que nous avions synthétisés : qu'il trouve ici l'expression de notre gratitude.

Les Laboratoires Roche nous ont toujours aimablement et gracieusement approvisionné en isoniazide. Nous devons à M. Piganiol, Directeur du Centre de Recherches des Etablissements Saint-Gobain, Chauny et Cirey, de nombreuses analyses élémentaires qui ont été effectuées dans son service de microanalyses. Le Centre de Recherches de Biologie préventive de la Sécurité Sociale nous a enfin fourni, à de nombreuses reprises, les produits nécessaires à nos expériences.

Avant d'exposer nos recherches, nous avons cru utile de rappeler au lecteur quelques points fondamentaux concernant la découverte de l'isoniazide et la structure de compo-

sés pyridiniques présentant un intérêt biologique. Aussi, avons-nous adopté le plan suivant :

I. — La découverte des propriétés tuberculostatiques de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique.

II. — Quelques notions fondamentales et quelques rappels sur les substances pyridiniques d'intérêt biologique.

III. — Recherches expérimentales sur l'isoniazide et quelques substances pyridiniques d'intérêt biologique.

1° Réaction avec différents acides : sels d'isoniazide et de différents composés pyridiniques;

2° Réaction avec les composés carbonylés :
— *Iso*nicotinylhydrazidones;
— Nouvelles réactions colorées de l'isoniazide;
— Réaction avec des acides et des composés carbonylés : sels d'*iso*nicotinylhydrazidones;

3° Réaction avec les sels métalliques :
— I. N. H. et dérivés;
— Vitamines P P et dérivés;
— Vitamines B_6.

IV. — Conclusions générales.

PREMIÈRE PARTIE

LA DÉCOUVERTE DES PROPRIÉTÉS TUBERCULOSTATIQUES DE L'HYDRAZIDE DE L'ACIDE *iso*NICOTINIQUE

« Dans les domaines de l'observation, le hasard ne favorise que les esprits préparés. »

PASTEUR.

La découverte des propriétés tuberculostatiques de l'isoniazide est très significative de l'esprit des recherches dans le domaine de la chimiothérapie moderne : l'étude systématique de familles chimiques, l'examen méthodique des intermédiaires de synthèse, la recherche des rapports entre la structure chimique et l'activité biologique, le hasard enfin se sont trouvés intimement mêlés dans la lutte contre le B. K.

DES SULFAMIDES AUX THIOSEMICARBAZONES (*)

A la suite des premiers travaux sur les sulfamides et vu le succès obtenu par ceux-ci dans la lutte antibactérienne, il était normal d'essayer ces nouveaux médicaments dans la tuberculose. Le B. K. ne se laissa pas vaincre, malgré les travaux de RICH et FOLIS [158] qui démontrèrent une faible activité des sulfamides sur l'infection tuberculeuse.

La lutte contre le bacille tuberculeux n'en continua pas moins et RIST et ses collaborateurs, à l'Institut Pasteur de Paris, eurent plus de succès avec la di(*p*-amino-phényl) sulfone qui se révéla active *in vitro* [159] comme chez l'animal d'expériences [160]; l'application à l'homme fut limitée par la toxicité de ce produit. Par la suite, d'autres sulfones, moins toxiques et même plus actives, furent

(*) Nous nous sommes inspiré, pour la rédaction de ce chapitre, d'une récente revue générale sur les tuberculostatiques [135].

synthétisées et certaines sont encore aujourd'hui utilisées comme médicaments adjuvants.

La voie que suivaient à Elberfeld Domagk et ses élèves [55] s'avéra plus fructueuse encore; ces auteurs expérimentèrent des dérivés du 1162 F substitués au niveau du groupement sulfamide par des noyaux hétérocycliques soufrés : le sulfathiazol (fig. 1) et surtout le sulfathiodiazol (fig. 2) se montrèrent assez intéressants. Ce dernier produit s'obtient par action de l'aldéhyde benzoïque sur la thiosemicarbazide; la thiosemicarbazone formée (fig. 3) est oxydée, la cyclisation aboutissant au sulfathiodiazol avec

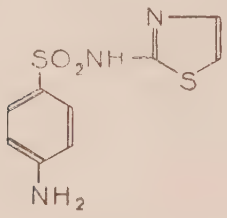

Fig. 1.

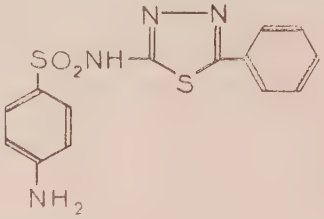

Fig. 2.

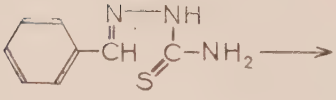

Fig. 3.

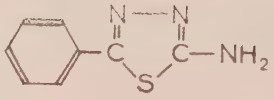

Fig. 4.

comme intermédiaire l'amino-2-phényl-5-thiodiazol (fig. 4). Behnisch étudia systématiquement les produits intermédiaires de cette synthèse et il constata que la thiosemicarbazone de l'aldéhyde benzoïque (fig. 3) possédait une action tuberculostatique très nette [13], avec laquelle le sulfathiodiazol ne pouvait soutenir la comparaison.

D'autres thiosemicarbazones furent synthétisées et, à des degrés variables, se montrèrent intéressantes sur le plan thérapeutique.

L'INTRODUCTION DES DÉRIVÉS PYRIDINIQUES ET LA DÉCOUVERTE DE L'I. N. H.

Parmi les nombreuses recherches effectuées sur les tuberculostatiques, la communication de Chorine [40], présentée en 1945 devant l'Académie des Sciences, reste comme un jalon dans la suite des travaux qui conduisirent à l'I. N. H.

Chorine attira l'attention sur le pouvoir tuberculostatique que possède aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* l'amide nicotinique (fig. 5), encore appelée vitamine PP ou amide de l'acide pyridine β-carboxylique. L'inhibition de la multiplication du B. K. et l'action vitaminique antipellagreuse

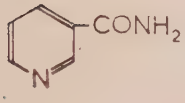

Fig. 5.

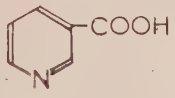

Fig. 6.

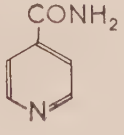

Fig. 7.

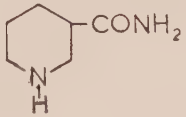

Fig. 8.

de la nicotinamide constituent deux propriétés distinctes et l'on en trouve la confirmation dans le fait que l'acide nicotinique (fig. 6), qui joue le rôle de provitamine PP, ne possède pas la moindre action biologique sur le bacille tuberculeux.

L'activité de la vitamine PP fut à nouveau mise en évidence par Mc Kenzie et Kushner [122-106] qui ignoraient les recherches de Chorine antérieures de trois ans. Ils montrèrent que la modification de la position spatiale de la chaîne latérale, aussi bien que la réduction du noyau pyridinique de la nicotinamide, annulent tout pouvoir tuberculostatique puisque l'*iso*nicotinamide (fig. 7) et la nipécotamide (fig. 8) se montrent sans action sur le B. K.

Levaditi [112] eut le mérite de faire le rapprochement

entre les travaux de Chorine et ceux de Domagk sur les thiosemicarbazones et réalisa la synthèse de la thiosemicarbazone de l'aldéhyde nicotinique (fig. 9) qui devint l'une des thiosemicarbazones les plus efficaces, aussi bien sur

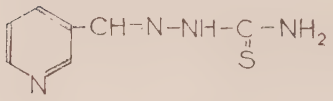

Fig. 9.

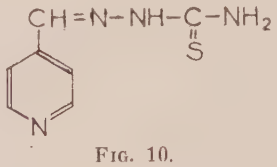

Fig. 10.

les cultures du *Mycobacterium tuberculosis* que chez l'animal tuberculisé.

Gardner, Smith, Wenis et Lee confirmèrent d'ailleurs ces résultats [79].

Aux Etats-Unis, dans les laboratoires de recherches de la maison Hoffmann La Roche, Fox entreprit une étude approfondie des composés pyridiniques et, en particulier, démontra l'activité de l'acide amino-3-*iso*nicotinique et de son ester méthylique [70]; les thiosemicarbazones de la méthyl-4-pyridyl-cétone et surtout de l'aldéhyde *iso*nicotinique (fig. 10) se révélèrent aussi efficaces que les thiosemicarbazones de l'école allemande [69].

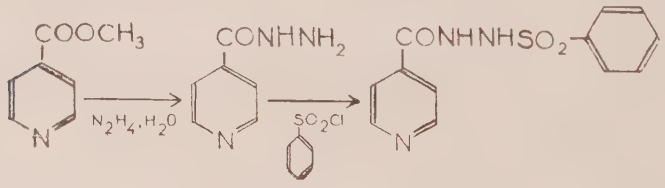

Fig. 11. Fig. 12. Fig. 13.

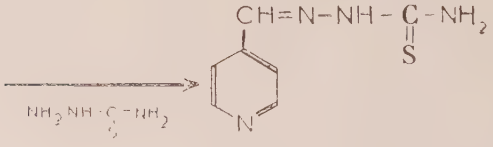

Fig. 14.

Devant les difficultés de synthèse de la thiosemicarbazone de l'aldéhyde *iso*nicotinique, Fox (mémoire du 3 décembre 1951 [71]) ne put suivre la technique habituelle de synthèse des thiosemicarbazones; c'est par une méthode différente, dont il est utile de connaître les étapes, qu'il arrive à ses fins : de l'acide *iso*nicotinique, il passe à l'*iso*nicotinate de méthyle (fig. 11) dont le traitement par l'hydrazine donne l'hydrazide *iso*nicotinique (fig. 12); le chlorure de benzène sulfonyle transforme ce dernier produit en N-*iso*nicotinoyl-N'-benzènesulfonoyl-hydrazine (fig. 13) dont la décomposition alcaline en présence de thiosemicarbazide aboutit à la thiosemicarbazone recherchée (fig. 14).

Grunberg et Schnitzer étudièrent l'activité tuberculostatique des intermédiaires de cette synthèse, ce qui leur permit de mettre en évidence et d'annoncer les premiers (23 décembre 1951 [88]) que l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique prenait place parmi les « grands » de la lutte antituberculeuse grâce à son fort pouvoir tuberculostatique. Peu de temps après (10 janvier 1952), Berstein et ses collaborateurs publiaient des résultats identiques [15].

L'*iso*nicotinylhydrazide n'était pas une substance chimique nouvelle puisqu'elle fut décrite pour la première fois par Meyer et Mally en 1912 [127]; elle constitue un nouvel exemple d'individu chimique dont les propriétés biologiques sont restées pendant longtemps méconnues.

L'utilisation en thérapeutique humaine se montra tout de suite très profitable et, actuellement, l'isoniazide est un élément majeur des synergies I. N. H.-streptomycine ou I. N. H.-P. A. S.

Son ascension au rang de vedette suscita de multiples recherches sur son absorption, sa toxicité, sa mise en évidence dans les liquides biologiques, son mode d'action, la production de nouveaux dérivés, etc. Les recherches rapportées ici prennent place parmi ces travaux.

QUELQUES CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'ISONIAZIDE

Le poids moléculaire de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique est de 137,14. Cette substance se présente sous la forme d'une poudre blanche cristalline. Les cristaux de l'I. N. H. appartiennent au système orthorhombique et Jensen [96, 97] a montré que les dimensions de la maille, qui renferme quatre molécules, sont les suivantes :

$$a = 11{,}33 \text{ Å},$$
$$b = 14{,}74 \text{ Å},$$
$$c = 3{,}84 \text{ Å}.$$

L'I. N. H. présente un point de fusion assez net sur lequel on trouve un bon accord dans la littérature :

F = 168,5-170,5° C. [72];
F = 171° C. [145];
F = 169-170° C. [124];
F = 171-173° C. [33];
F = 169-171° C. [30];
F = 170-172° C. [19].

Le point de fusion donné par les premiers auteurs qui ont synthétisé l'I. N. H., Meyer et Mally [127], n'est que de 163° C. : il s'agit donc vraisemblablement d'un produit insuffisamment purifié.

L'isoniazide est soluble dans l'eau et dans de nombreux solvants; le tableau suivant (*) nous précise la valeur de la solubilité dans les milieux usuels :

Solvant	Solubilité (g p. 100) à froid	Solubilité (g p. 100) à chaud
Eau	11,5	250
Ethanol à 95°	2,4	20
Chloroforme	0,2	0,44
Méthanol	2,78	20

(*) Ces renseignements figurent dans une brochure éditée par les Laboratoires « Carlo Erba », Milan (Italie).

L'I. N. H. est également soluble dans l'acétone (2 p. 100 à froid, 2,48 p. 100 à chaud) et dans la méthyléthylcétone (4,42 p. 100 à froid, 4,78 p. 100 à chaud), mais nous verrons plus loin que l'on ne peut parler ici d'une véritable solubilité, car l'isoniazide se combine avec les composés carbonylés de ce type. L'I. N. H. est au contraire pratiquement insoluble dans l'éther et dans le benzène.

La solution aqueuse de l'hydrazide *iso*nicotinique présente un *p*H voisin de la neutralité (*p*H = 6,5 environ). L'électrotitration [2] montre l'existence de trois *p*Ka, de valeur :

$$pK_{a^1} = 10{,}77,$$
$$pK_{a^2} = 3{,}54,$$
$$pK_{a^3} = 1{,}85,$$

correspondant respectivement au groupement acide :

$$\mathrm{Py} - \underset{\displaystyle |}{\overset{\displaystyle O^-}{C}} = N - NH_2$$

à l'atome d'azote pyridinique et au groupement — NH_2 du radical hydrazide.

Le spectre d'absorption ultraviolette de l'I. N. H. montre, en solution aqueuse, un maximum de 262 mμ et un minimum de 227 mμ [133] ; ces valeurs passent respectivement à 267 mμ et à 235 mμ en solution chlorhydrique 0,1 N [7, 93] ; en milieu alcalin, un nouveau maximum apparaît à 298 mμ [86].

Les caractéristiques chromatographiques de l'hydrazide *iso*nicotinique ont été décrites pour plusieurs systèmes de phases solvantes :

Phase solvante	Papier	Rf	Auteurs
Alcool *iso*amylique/eau/acide acétique (50 : 50 : 1,5)	Whatman n° 1	0,80	[34]
n-butanol/eau (4 : 1)	—	0,43	[44]
n-propanol/eau (4 : 1)	—	0,62	[44]
iso-propanol/eau (85 : 15) ...	—	0,66	[197]

DEUXIÈME PARTIE

INTÉRÊT BIOLOGIQUE DES SUBSTANCES PYRIDINIQUES

Depuis leur découverte, les composés pyridiniques ont toujours été étroitement associés à la matière vivante. Les huiles d'odeur nauséabonde qu'obtenait dès le XIII[e] siècle le célèbre alchimiste Alfred von Villanosa, par distillation sèche du sang humain, étaient certainement riches en dérivés pyridiniques. Ces huiles d'origine animale, particulièrement étudiées au début du XVIII[e] siècle par J. C. Dippel, restèrent pendant longtemps des remèdes plus ou moins magiques, mais néanmoins fort appréciés, notamment la fameuse *oleum animale Dippelii*.

Ce n'est cependant qu'avec l'essor de la chimie organique, à partir du début du dernier siècle, que se développent des connaissances précises concernant la chimie de ce groupe de substances. Continuant les travaux d'Unverdorben (1816-1827), le chimiste écossais Anderson, dès 1849, isole à partir du goudron de houille, matière première plus commode que l'huile animale, quatre bases :

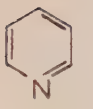

Fig. 15. Pyridine.

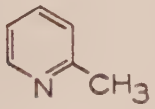

Fig. 16. α-picoline.

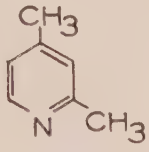

Fig. 17. Lutidine-2-4.

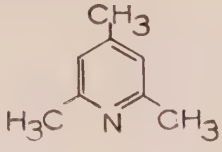

Fig. 18. Collidine-2-4-6.

la picoline (fig. 16), puis son homologue inférieur la pyridine (fig. 15), ainsi que deux homologues supérieurs, la lutidine (fig. 17) et la collidine (fig. 18) (*).

(*) Toutes ces bases sont maintenant bien connues, non seulement des chimistes, mais encore de tous les médecins orientés vers la biologie médicale, en raison de leur emploi comme phases solvantes dans la chromatographie de partage sur papier, tout particulièrement dans le domaine des amino-acides.

A peu près à la même époque, Gerhardt replace les composés pyridiniques parmi les produits d'intérêt biologique en montrant les rapports entre le noyau de la pyridine et celui de la quinoléine (fig. 19) que l'on rencontre dans la structure de nombreux alcaloïdes (*), avec également les noyaux de l'*iso*quinoléine (fig. 20), de la quinolizine (fig. 21) et de la pipéridine (fig. 22), ce dernier provenant de la réduction de la pyridine.

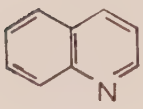

Fig. 19.
Quinoléine.

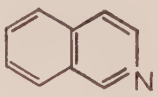

Fig. 20.
*Iso*quinoléine.

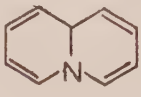

Fig. 21.
Quinolizine.

Fig. 22.
Pipéridine.

Depuis vingt ans, les investigations biochimiques ont confirmé l'importance du noyau pyridinique que l'on retrouve dans des substances aussi importantes que les vitamines PP et B_6 ainsi que, sous sa forme hydrée, dans les produits du métabolisme azoté (acide nipécotique).

Les dérivés pyridiniques deviennent en outre chaque jour plus nombreux en thérapeutique : tous les praticiens connaissent la coramine (diéthylamide de l'acide pyridine-β-carboxylique) pour son action analeptique cardiovasculaire et le dagénan (α-*p*-aminobenzène-sulfamidopyridine), sulfamide polyvalent qui se révéla très actif dans les pneumococcies et les gonococcies. Rappelons également des colorants azoïques à noyaux pyridiniques utilisés comme désinfectants urinaires : pyridium (phénylazodiaminopyridine) et néotropine (butyloxydiaminoazopyridine) ; l'oxyméthylamide de l'acide pyridine-3-carboxylique ou bilamide est également un antiseptique biliaire et intestinal apprécié. De nombreux médicaments dérivent

(*) Trigonelline, coniine, pipérine, ricinine, lobéline, arécoline, arécaïdine, pelletiérine, nicotine, alcaloïdes tropaniques, anabasine, pseudopelletiérine, quinine, cinchonine, lupinine, spartéine, etc.

des noyaux quinoléique (vioforme, plasmochine, rodoquine, atophan, etc) et pipéridinique (pipéridione) ou possèdent dans leur structure le noyau de l'acridine (fig. 23).

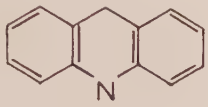

Fig. 23.

Acridine.

Les deux paragraphes suivants sont consacrés à quelques données chimiques et physiologiques concernant l'amide nicotinique (vitamine PP) et le groupe des vitamines B_6; nous avons en effet utilisé ces substances au cours de nos recherches personnelles et nous allons voir que des interférences semblent exister entre ces principes vitaminiques et l'isoniazide.

L'AMIDE NICOTINIQUE

Si l'on hésite, à l'heure actuelle, à classer encore l'amide nicotinique dans le groupe des vitamines, en raison de sa synthèse possible *in vivo* à partir du tryptophanne, l'intérêt physiologique de cette substance la place au premier rang des préoccupations des biochimistes car elle entre dans la constitution de plusieurs enzymes fondamentaux du métabolisme intermédiaire.

Nous savons en effet que le transport des atomes d'hydrogène s'effectue au cours de nombreuses réactions grâce à l'intervention des codéhydrases I de von Euler et II de Warburg. Dans la codéhydrase I, l'amide nicotinique est unie à une molécule de ribose, cet ose étant lié lui même, par l'intermédiaire d'une molécule d'acide phosphorique, à une molécule d'acide adénylique : ce coenzyme mérite donc le nom de diphosphopyridine nucléotide (D. P. N.); le transport d'hydrogène s'effectue grâce à la réduction du noyau pyridinique. La codéhydrase II possède une

structure très voisine, ne différant du D. P. N. que par la présence d'une molécule supplémentaire d'acide phosphorique, d'où son nom de triphosphopyridine nucléotide (T. P. N).

L'analogie de structure existant entre la nicotinamide (voir fig. 5) et l'isoniazide devait conduire les chercheurs à admettre la possibilité d'une inhibition compétitive entre ces deux substances, analogue à celle qui existe entre les composés sulfamidés et l'acide *p*-aminobenzoïque.

Quelques résultats cliniques plaident en ce sens : Mc Connel et Cheetnam décrivirent un syndrome pellagreux apparu chez un sujet traité par l'I. N. H. et la régression des signes pathologiques sous l'action de la vitamine PP [121]. Pegum observa également chez un malade soumis à l'isoniazide, un syndrome des « pieds brûlants » [149], classiquement attribué à une carence en amide nicotinique.

Au laboratoire, plusieurs auteurs cherchèrent à mettre en évidence sur les cultures de B. K. un antagonisme entre l'I. N. H. et la nicotinamide; les résultats se montrèrent cependant assez contradictoires. Un antagonisme partiel fut bien noté par Colizzi et Garattini [42], mais ni Cattaneo et Morellini [27] ni Schaefer [172] ne purent obtenir la réversibilité de l'action tuberculostatique de l'I. N. H. par la vitamine P P; leurs résultats furent confirmés par Sella [177].

L'action de l'isoniazide sur le fonctionnement des déshydrogénases à D. P. N. ou à T. P. N. constitue une autre voie d'abord de ce problème. Gutmann, Felton et Huennekeu [91] ont pu prouver récemment que les enzymes à D. P. .N. qui réalisent la déshydrogénation de l'acide malique, de l'acide lactique et du 3-phosphoglycéraldéhyde, de même que les enzymes à T. P. N. qui réalisent l'oxydation de l'acide *iso*citrique et du glucose-6-phosphate sont insensibles à l'I. N. H.; seule peut être inhibée la réduction de l'acide pyruvique en acide lactique, mais cette dernière

réaction englobe un composé carbonylé susceptible de se combiner à l'I. N. H. Cependant, des travaux de Zatmann et de ses collaborateurs [198] viennent nous apporter la preuve de l'interférence de l'isoniazide dans le métabolisme de l'amide nicotinique : la diphosphopyridine nucléotidase se montre inhibée par l'I. N. H., mais seulement dans certaines espèces (bœuf, mouton, chèvre, canard et pigeon) ; il n'y a pas d'inhibition chez l'homme, le cheval, le porc, le lapin, la souris, le rat et la grenouille. On a pu isoler et caractériser, chez les espèces à enzyme non sensible, un D. P. N. à isoniazide dans lequel l'I. N. H. a pris la place de la vitamine PP; il est probable que ce nouveau D. P. N. se forme également dans une phase initiale chez les espèces à enzyme sensible et que ce composé bloque par la suite le fonctionnement diastasique. Le manque de données sur les nucléotidases du *Mycobacterium* et leurs inhibiteurs ne nous permet pas de savoir si le mécanisme précédent est susceptible d'expliquer l'action tuberculostatique de l'I. N. H.

LES FACTEURS VITAMINIQUES B_6 (*)

Si la réalité d'une carence vitaminique B_6 n'a jamais pu être démontrée en clinique humaine, nul ne songe cependant aujourd'hui à contester le rôle primordial des différents facteurs vitaminiques B_6 dans les processus chimiques du métabolisme intermédiaire.

La pyridoxine (fig. 24), encore appelée adermine ou méthyl-2-hydroxy-3-dihydroxyméthyl-4,5-pyridine a été la première substance isolée dans cette série [105, 185 a]. A la suite des patientes et remarquables recherches conduites par Snell [183, 180, 181], le « complexe B_6 » a été dissocié et comprend, outre la pyridoxine, deux composés

(*) Pour une étude plus complète du complexe vitaminique B_6, voir [136].

voisins, le pyridoxal (fig. 25) et la pyridoxamine (fig. 26) qui s'avèrent encore plus actifs.

Il a été établi que ces facteurs B_6 possédaient une action coenzymatique pour de nombreuses diastases; la plupart des auteurs admettent que la forme véritablement active serait constituée par le pyridoxal-5-phosphate [182, 179, 173, 161], qui interviendrait dans de multiples réactions du métabolisme protidique. La décarboxylation des amino-

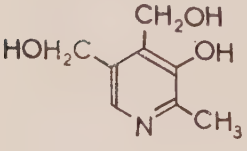

Fig. 24.

Pyridoxine.

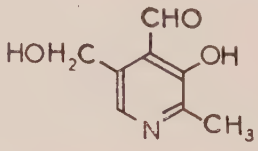

Fig. 25.

Pyridoxal.

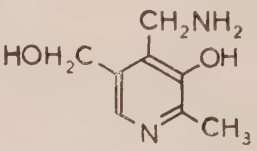

Fig. 26.

Pyridoxamine.

acides et le passage aux amines correspondantes, le phénomène de transamination qui permet le transport du groupement — NH_2 d'un acide α-aminé à un acide α-cétonique [114, 104], de nombreuses voies métaboliques du tryptophanne (conversion en acide nicotinique [98], scission en acide anthranilique [120], formation d'indol [194]) sont toutes sous la dépendance de cet ester phosphorique du pyridoxal.

Comme pour l'amide nicotinique, la parenté de structure entre l'isoniazide et les pyridines substituées à action vitaminique B_6 est à la base d'hypothèses concernant le mécanisme d'action du tuberculostatique. Yoneda et Asano [196] ont montré en particulier que les acidaminodécarboxylases d'*Escherichia coli* peuvent être inhibées par l'I. N. H. et que cette inhibition est susceptible d'être levée à son tour par les vitamines B_6.

Dans la partie expérimentale de notre travail, nous aurons l'occasion de discuter à nouveau cette compétition entre l'I. N. H. et la pyridoxine, car les deux substances forment avec certains ions des complexes métalliques.

TROISIÈME PARTIE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

Dès que les médecins du Sea View Hospital [88], bientôt suivis par l'équipe du Squibb Institute for Medical Research [15], annoncèrent au monde médical les propriétés tuberculostatiques de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique, le nouveau médicament fut expérimenté dans le monde entier. D'une manière générale, l'efficacité de l'isoniazide fut partout reconnue et, depuis 1952, des milliers de publications en ont précisé les avantages par rapport aux autres agents chimiothérapiques utilisés dans la tuberculose, souligné les inconvénients et montré que, dans ce domaine pas plus qu'ailleurs, aucun médicament, si intéressant soit-il, n'est infaillible.

Les données concernant le mécanisme d'action de l'I. N. H. restent encore, à l'heure actuelle, beaucoup plus limitées par rapport à la pléthore des observations cliniques. Le plus souvent, l'interprétation des expériences biologiques conduit les chercheurs à émettre des hypothèses dont les fondements chimiques ne sont pas toujours solidement établis. Nous avons voulu apporter notre pierre personnelle à cet édifice en étudiant certaines modalités de la réactivité chimique de l'isoniazide :

1° L'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique est un dérivé pyridinique; nous verrons bientôt que la présence d'un atome d'azote dans l'hétérocycle entraîne des propriétés que l'on retrouve chez presque tous les représentants de cette famille : la fixation des acides minéraux ou organiques, en particulier, s'effectue à ce niveau. Notre premier chapitre est consacré à l'étude de quelques sels de l'isoniazide. Nous avons été amené à décrire également dans ce chapitre quelques sels, non encore connus, de composés pyridiniques apparentés et dont nous avons souligné plus haut (voir pp. 19-24) l'intérêt biologique : amide nicotinique, vitamines du groupe B_6.

2° A l'autre extrémité de la molécule, en position γ, se trouve la chaîne hydrazidique dont la réactivité est voisine de celle des hydrazines. En particulier, l'action des composés carbonylés (aldéhydes ou cétones) conduit à la formation d'*iso*nicotinylhydrazidones. C'est parmi ces derniers composés que nous avons recherché ceux dont l'insolubilité et la forme cristalline permettent la caractérisation rapide du tuberculostatique. Au cours de cette étude, nous avons noté d'intéressantes réactions colorées avec quelques composés carbonylés (diacétyle, acétylacétone, azoïques à fonction aldéhydique libre).

Si le nombre des *iso*nicotinylhydrazidones décrites est très élevé, les sels de ces dérivés sont encore peu connus. Nous en avons synthétisé plus de cinquante nouveaux représentants et nous indiquons pour certains d'entre eux la valeur du pouvoir tuberculostatique.

Le deuxième chapitre de la partie expérimentale de notre travail groupe l'ensemble des recherches que nous avons effectuées dans le système I. N. H.-composés carbonylés.

3° Les deux extrémités de la molécule d'isoniazide, l'azote pyridinique comme la chaîne hydrazidique, sont susceptibles enfin de former des complexes avec les sels métalliques : aussi, avons-nous constaté la formation de composés insolubles par action sur l'I. N. H. de nombreux sels métalliques. L'affinité du tuberculostatique pour les ions métalliques nous a conduit à examiner également les complexes métalliques de la vitamine P P et de la pyridoxine; nos résultats nous permettent de proposer une nouvelle hypothèse sur le mécanisme d'action du tuberculostatique.

Le troisième et dernier chapitre groupe donc les différentes investigations concernant l'action des sels métalliques sur ces dérivés pyridiniques.

CHAPITRE PREMIER

ACTION DE DIFFÉRENTS ACIDES SUR L'ISONIAZIDE ET QUELQUES COMPOSÉS PYRIDINIQUES

Avant d'exposer nos recherches personnelles, il nous paraît important de rappeler quelques notions fondamentales sur la réactivité de l'azote pyridinique.

RÉACTIVITÉ DE L'AZOTE HÉTÉROCYCLIQUE DE LA PYRIDINE

La pyridine (fig. 15, p. 19), qui représente le noyau structural de la molécule d'isoniazide, peut fixer sur l'atome d'azote de son hétérocycle des substances très variées. L'oxydation de la pyridine par l'eau oxygénée ou par un peracide (acide perbenzoïque par exemple) donne naissance au N-oxyde de pyridine. Cette réaction a été longtemps expliquée par un changement de valence de l'atome d'azote qui, de trivalent, deviendrait pentavalent; cette manière de voir est incompatible avec les théories électroniques modernes de la valence; dans la pyridine, l'atome d'azote possède en réalité une paire d'électrons non partagée et l'atome d'oxygène vient s'y unir par une liaison de covalence qui complète l'octet électronique

(fig. 28). On représente donc le N-oxyde de pyridine, non plus par la formule (fig. 27), mais par les schémas (fig. 29)

Fig. 27.

Fig. 28.

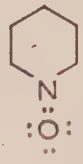

Fig. 29.

Fig. 30.

ou (fig. 30). L'action des halogénures ou des sulfates d'alcoyle s'explique d'une manière analogue. L'iodure de méthylpyridinium, par exemple, ne semble pas répondre à la structure (fig. 31), mais plutôt au schéma (fig. 32),

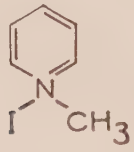

Fig. 31.

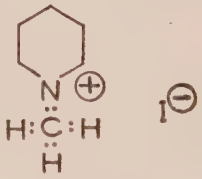

Fig. 32.

dans lequel nous remarquons l'apparition d'une charge électrique sur le noyau.

La pyridine présente en solution aqueuse un léger caractère basique; si elle se montre neutre en présence de phénolphtaléine, elle bleuit faiblement la teinture de tournesol et on peut la titrer en présence de méthylorange. Le *p*H de sa solution aqueuse N/10 est de *p*H = 9,3. Les propriétés basiques proviennent de la fixation sur l'azote d'ions hydrogène libérés par la dissociation de l'eau; en milieu aqueux, la pyridine possède donc la structure (fig. 33) à laquelle correspondent de nombreux sels (*).

La réactivité de l'azote pyridinique apparaît également responsable de la fixation sur la pyridine du chloro-1-dinitro-2,4-benzène [191, 202] et du bromure de cyano-

(*) Pour les principaux sels de la pyridine, consulter [186].

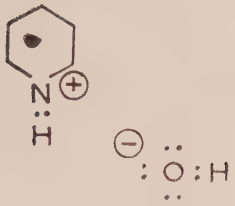

Fig. 33.

gène [102]; mais dans ces deux derniers exemples, la réaction est plus complexe et entraîne, en milieu alcalin, la rupture du noyau pyridinique; en présence d'amines aromatiques en particulier, on obtient des dianiles de l'aldéhyde glutaconique, composés fortement colorés *(couleurs pyridiques)* souvent utilisés pour la détection de la pyridine et de ses dérivés.

RÉACTIVITÉ DE L'AZOTE HÉTÉROCYCLIQUE DE L'ISONIAZIDE

Le comportement de l'isoniazide apparaît très voisin de celui de la pyridine vis-à-vis des agents précités. Le N-oxyde de l'I. N. H. a été décrit par Yale et ses collaborateurs (F = 218-219° C., déc. [195]) et l'iodométhylate a été préparé par de nombreux auteurs (F = 210-213° C. [123], F = 210-212° C. [195], F = 205-207° C. [25], F = 215° C., déc. [16], F = 248° C. [36]). La réaction au bromure de cyanogène, bien connue sous le nom de réaction de König, a été appliquée aussi bien à la caractérisation et au dosage de l'I. N. H. [77, 75, 7, 184, 164, 50, 48, 132, 82, 83] qu'à la révélation du tuberculostatique sur les chromatogrammes [49, 197, 44, 34, 43, 116, 111]. L'I. N. H. donne en outre, avec le chloro-1-dinitro-2,4-benzène, en présence de carbonate de sodium, une coloration rouge pourpre [193, 82, 77, 75, 164, 176, 10, 154, 174, 7, 50].

Quelques auteurs ont signalé l'action de divers acides

minéraux sur l'isoniazide; le chlorhydrate d'I. N. H. (F = 300° C.) a été rapporté par Meyer et Mally [127]; l'addition d'acide chlorhydrique dans une solution aqueuse du tuberculostatique entraîne l'apparition d'une coloration jaune pour une concentration en acide voisine de la normalité, tandis que pour HCl = 2 N, la coloration disparaît [62]; nous avons signalé plus haut les modifications du spectre d'absorption de l'I. N. H. en milieu chlorhydrique N/10 (voir p. 15). L'acide iodhydrique entraîne la précipitation d'un sel insoluble [5]. Les sulfate et phosphate d'I. N. H. cristallisent facilement [37]. L'action des acides minéraux se trouve parfois perturbée par le pouvoir réducteur de l'isoniazide : c'est ce que l'on observe avec l'acide iodique [192], l'acide tungstique [192] et l'acide molybdique [184, 192]; les acides phosphomolybdique [50, 147], phosphotungstique [164, 50], phosphotungstomolybdique [164], sulfomolybdique [164] et silicotungstique [50] précipitent l'I. N. H. à froid, mais sont réduits à chaud par l'hydrazide.

Nous connaissons également plusieurs sels organiques de l'hydrazide *iso*nicotinique : le sel obtenu par action sur l'I. N. H. de l'acide *p*-aminosalicylique (F = 142-143° C., déc. [195]; F = 174,5° C. [37]) a été utilisé avec succès dans la thérapeutique antituberculeuse [103, 129]. Yale et ses collaborateurs ont décrit en outre le *p*-toluène sulfonate (F = 169-170° C. [195]), mais c'est à Charonnat et Boime [36] que nous devons les sels obtenus avec les acides salicylique (F = 146° C.), *p*-aminobenzoïque (F = 129° C), amino-2-benzoïque (F = 104° C.), amino-3-benzoïque (F = 127° C.), hydroxy-3-benzoïque, hydroxy-4-benzoïque, gentisique (F = 185° C.), cholique, déhydrocholique et oxalique. Ces mêmes auteurs n'ont pu cependant obtenir de sels en mettant en œuvre les acides acétylsalicylique, gallique, thioglycolique et méthylarsinique. Signalons encore les sels des acides picrique [7, 5, 119] et picrolonique [5].

PERCHLORATE DE L'HYDRAZIDE *ISO*NICOTINIQUE

L'addition d'un volume d'acide perchlorique pur (d = 1,61) à dix volumes d'une solution aqueuse concentrée d'I. N. H. (10 p. 100) entraîne une coloration jaune (effet batochrome), bientôt suivie de l'apparition d'un précipité blanc cristallin. Si la quantité d'acide perchlorique dépasse la valeur précédente, le précipité se redissout rapidement et, pour une teneur suffisante en acide, la coloration jaune disparaît à son tour. La même expérience réalisée avec une solution d'isoniazide à 5 p. 100 ne donne lieu, pour une concentration convenable en acide, qu'à la seule coloration jaune.

En raison du danger que présente la manipulation à l'état sec des perchlorates de dérivés pyridiniques, nous n'avons pas cherché à recueillir le perchlorate d'isoniazide. Notons que l'acide perchlorique, en milieu anhydre, peut être utilisé pour la titration de l'I. N. H. [100, 176].

NOUVEAUX SELS ORGANIQUES DE L'HYDRAZIDE *ISO*NICOTINIQUE (*)

A. — Sulfosalicylate

Une solution aqueuse à 10 p. 100 d'acide sulfosalicylique (acide sulfo-5-hydroxy-2-benzoïque), mélangée à son volume d'une solution d'isoniazide, donne lieu, comme pour l'acide perchlorique, à un effet batochrome : on note en effet une coloration jaune immédiate, puis la formation d'un précipité blanc qui apparaît constitué de plaques cristallines très bien formées; à la concentration de

(*) Une communication préliminaire a été présentée devant la section bordelaise de la Société chimique de France [141].

0,25 p. 100, la solution d'I. N. H. précipite après environ quinze minutes; une solution deux fois plus diluée donne encore quelques cristaux après vingt-quatre heures.

Le précipité, recueilli et séché, se montre constitué par un sel monohydraté :

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_7H_7O_6S$, 1 H_2O (P M = 273; F = 260° C., déc.).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	41,82	4,02	11,26
Trouvé	41,69	4,20	11,14
—	41,74	4,20	11,00

B. — Benzène sulfonate

Ce sel a été obtenu par simple mélange des solutions alcooliques d'I. N. H. et d'acide benzène sulfonique. Il est à noter que si le mélange est coloré en *jaune*, on obtient ici également un précipité *blanc* formé de petits prismes que l'analyse permet d'identifier au semi-hydrate.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_6H_6O_3S$, 1/2 H_2O
(P M = 304; F = 162-163° C.).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	48,16	4,68	14,04
Trouvé	48,52	4,36	14,17
—	48,33	4,49	14,11

On remarquera la présence d'une demi-molécule d'eau de cristallisation dans un produit cependant préparé en milieu alcoolique; ce fait semble assez courant dans la chimie de l'isoniazide [113]; l'eau ne peut provenir ici d'une réaction entre l'I. N. H. et l'acide : elle a vraisemblablement été cédée par le solvant qui n'est pas parfaitement anhydre (alcool à 95°).

En milieu aqueux, le benzène sulfonate d'isoniazide s'avère trop soluble et ne précipite pas.

C. — *O*-phtalate

Préparé en milieu hydroalcoolique, il se présente sous la forme de petites tables jaune-soufre.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_8H_6O_4$ (P M = 303; F = 151° C.).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	55,44	4,32	13,86
Trouvé	55,88	4,53	14,51
—	55,84	4,33	14,52

D. — Dinitrobenzoates

Le dinitro-2,5-benzoate a été préparé en milieu hydroalcoolique, le dinitro-3,5-benzoate en milieu alcoolique. Le premier cristallise en plaques orangées (F = 152° C.), le deuxième en aiguilles blanches (F = 167° C.).

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_7H_3O_6N_2$ (P M = 349).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	44,70	3,17	20,05
Trouvé :			
dinitro-2,5-benzoate.	44,74	3,34	20,83
— —	45,06	3,38	20,50
dinitro-3,5-benzoate.	44,85	3,59	20,54
— —	45,00	3,74	20,61

Remarquons qu'au cours de la synthèse des deux composés, nous n'avons pas observé de réduction des acides dinitrobenzoïques par l'I. N. H.; la réduction se produit en milieu alcalin seulement [192]. Nous n'avons pu réussir à

préparer le dinitro-2,4-benzoate en milieu alcoolique. La faible quantité de cet acide que nous avons pu nous procurer ne nous a pas permis de poursuivre nos essais.

E. — Cinnamate

Il précipite en cristaux blancs, avec assez de difficulté, des solutions alcooliques concentrées d'I. N. H. et d'acide cinnamique.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_9H_8O_2$ (P M = 285° C.; F = 131°).

	% C	% H	% N
Calculé	63,15	5,30	14,73
Trouvé	63,83	5,43	15,83
—	63,88	5,34	15,72

F. — Résorcylate

En présence d'une solution alcoolique saturée d'acide dihydroxy-2,4-benzoïque (acide résorcylique), l'I. N. H. ne donne lieu à aucun effet batochrome; un précipité cristallin blanc se forme presque immédiatement.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_7H_6O_4$ (P M = 291° C.; F = 222-223° C.).

	% C	% H	% N
Calculé	53,61	4,50	14,43
Trouvé	53,99	4,98	15,10
—	54,04	4,72	15,19

G. — Autres sels organiques de l'isoniazide

En milieu hydroalcoolique, nous avons pu préparer également le *p*-hydroxybenzoate (P M = 275, F = 157-158° C.; % N., calc. : 15,27, trouvé : 15,36; 15,16), le

dinitro-3,5-salicylate (F = 185° C.), le nitro-3-phtalate (F = 189° C.), le *m*-nitrobenzène sulfonate (F = 260° C.), le sel de l'acide naphtalène sulfonique-2 (F = 257° C.).

H. — Essais infructueux

Yale [195] a décrit le sel de l'I. N. H. obtenu par action sur le tuberculostatique de la méthionine (F = 227-230° C., déc.). L'existence de ce composé peut être mise en doute, car ce produit n'a pas été obtenu à l'état cristallin. Charonnat et Boime [37] n'ont pu obtenir de sel avec un autre acide aminé, le glycocolle.

Nous avons essayé d'obtenir des sels de l'I. N. H. avec des acides aminés dicarboxyliques, acides aspartique et glutamique; ce dernier semblait, à priori, d'autant plus intéressant à réaliser que l'acide glutamique diminue la toxicité de l'isoniazide [32, 31], probablement parce qu'il permet le transport sous forme de glutamine de l'ammoniaque libérée au cours du catabolisme du tuberculostatique [77, 78]. Ni l'acide aspartique, ni l'acide glutamique (acide libre ou chlorhydrate) ne nous ont donné le produit désiré, malgré l'apparition d'une coloration jaune : les cristaux obtenus se sont montrés être ceux de l'aminoacide.

Avec les acides mandélique, *o*-chlorobenzoïque, *m*-bromobenzoïque, le précipité obtenu a pu être identifié par l'analyse élémentaire avec l'I. N. H. Enfin, nous n'avons pu noter l'apparition d'un précipité dans les solutions d'I. N. H. et des acides suivants : formique, acétique, mono-, di- et trichloracétiques, cyanacétique, malonique, lactique, sulfanilique, *o*-nitrobenzoïque, *o*-toluène sulfonique, hippurique, *p*-amino-hippurique, camphosulfonique et nicotinique.

SULFOSALICYLATES DE DIVERS COMPOSÉS PYRIDINIQUES

A. — Action de l'acide sulfosalicylique sur le méthane sulfonate sodique de l'hydrazide *iso*nicotinique (I. N. H. M. S.)

Logemann [115], en faisant agir sur l'isoniazide le bisulfite de sodium en présence de formol, a obtenu le sel de sodium de l'acide méthane sulfonique de l'hydrazide *iso*nicotinique (fig. 34). Ce sel est hydrosoluble (12 p. 100

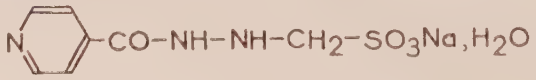

Fig. 34.

à 20° C.) et cristallise avec une molécule d'eau. Il s'est révélé peu toxique et très actif sur le B. K. [35]; la chromatographie de partage sur papier montre que sa solution aqueuse est stable à la température ambiante et ne libère que de faibles quantités d'I. N. H. par chauffage au bain-marie [116]. Nous sommes en présence, avec l'I. N. H. M. S., d'une hydrazine N,N'-disubstituée dont la liaison — $NH-CH_2$ apparaît nettement plus forte que la liaison — N = CH — ou — N = C < des hydrazidones (voir plus loin, p. 41).

L'action de l'acide sulfosalicylique confirme la stabilité de ce nouveau tuberculostatique (*) : une solution aqueuse à 5 p. 100 d'I. N. H. M. S., mélangée à son volume de solution aqueuse d'acide sulfosalicylique à 10 p. 100, présente une coloration jaune immédiate, plus intense que celle

(*) Nous remercions les Laboratoires Carlo Erba, via Carlo Imbonati 24, Milan (Italie), qui nous ont gracieusement fourni le produit nécessaire à notre expérimentation. Le méthane sulfonate sodique de l'isoniazide est spécialisé en Italie sous le nom de « Neo-Tizide ».

fournie dans les mêmes conditions par l'I. N. H.; mais aucun précipité n'apparaît, même après vingt-quatre heures et séjour en glacière; la solution d'I. N. H. M. S. est donc très stable à la température ambiante, car si de l'I. N. H. avait été libéré, cet hydrazide aurait immédiatement précipité sous la forme du sulfosalicylate correspondant.

B. — Action de l'acide sulfosalicylique sur l'amide nicotinique

Le sulfosalicylate de l'amide nicotinique précipite lentement des solutions aqueuses sous la forme de petits cristaux blancs parallélépipédiques.

Analyse :

$C_6H_6ON_2$, $C_7H_6O_6S$ (P M = 340,24; F = 246° C.).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	45,89	3,56	8,23
Trouvé	46,60	3,50	8,21
—	46,67	3,62	8,40

Nous avons examiné également l'action de l'acide sulfosalicylique sur la N-diéthylnicotinamide (*) et sur l'oxyméthylamide de l'acide nicotinique (**) : dans les conditions précédentes, aucun sel ne s'insolubilise.

C. — Action de l'acide sulfosalicylique sur les facteurs vitaminiques B_6

Ni la pyridoxine, ni la pyridoxamine ne sont précipitées par cet acide.

(*) Nous remercions les Laboratoires Ciba, 103 à 123, boulevard Vivier-Merle, Lyon, qui nous ont procuré ce produit, spécialisé sous le nom de « Coramine ».

(**) Aimablement procuré par les Laboratoires Lobica, 25, rue Jasmin, Paris (XVI^e); les Laboratoires Lobica ont spécialisé l'oxyméthylamide de l'acide nicotinique sous le nom de « Bilamide-Cilag »; ce produit est utilisé comme désinfectant hépato-biliaire.

DINITRO-2,5-SALICYLATES DE DIVERS COMPOSÉS PYRIDINIQUES

En milieu hydroalcoolique, nous avons pu préparer les dinitro-2,5-salicylates de l'amide nicotinique (F = 171° C), de la pyridoxamine et de l'I. N. H. M. S.

Au contraire, avec la pyridoxine, la N-diéthylnicotinamide et l'oxyméthylamide de l'acide nicotinique, nos essais ont été infructueux.

CONCLUSIONS DU PREMIER CHAPITRE

Après avoir rappelé quelques données essentielles sur la réactivité de l'azote hétérocyclique dans les molécules de pyridine et de l'hydrazide *iso*nicotinique, et mentionné les divers sels d'isoniazide qui ont été décrits par d'autres auteurs, nous avons exposé le résultat de notre étude sur l'action des acides sur l'I. N. H.

De nouveaux composés ont été décrits en mettant en œuvre les acides perchlorique, sulfo-5-salicylique, benzène sulfonique, *o*-phtalique, dinitro-2,5- et dinitro-3,5-benzoïques, cinnamique, résorcylique, *p*-hydroxybenzoïque, dinitro-3,5-salicylique, nitro-3-phtalique, *m*-nitro-benzène sulfonique et naphtalène sulfonique-2.

Nous avons synthétisé enfin le sulfosalicylate de l'amide nicotinique et les dinitro-2,5-salicylates de l'amide nicotinique, de la pyridoxamine et du méthane sulfonate sodique de l'hydrazide *iso*nicotinique.

CHAPITRE II

ACTION DE L'HYDRAZIDE *ISO*NICOTINIQUE SUR LES COMPOSÉS CARBONYLÉS

Dans la molécule d'isoniazide, l'extrémité opposée à l'atome d'azote hétérocyclique est occupée par une chaîne hydrazidique — CO — NH — NH_2. Ce groupement chimique apparaît très voisin de la fonction hydrazine — NH — NH_2 et partage avec elle un certain nombre de possibilités réactionnelles. Hydrazines et hydrazides peuvent réagir avec les composés carbonylés pour former des hydrazones :

$$(1)\ R — NH — NH_2 + OHC — R' \rightarrow R — NH — N = CH — R' + H_2O$$

$$(2)\ R — CO — NH — NH_2 + OHC — R' \rightarrow R — CO — NH — N = CH — R' + H_2O$$

La réaction (1) est à la base des techniques de caractérisation de nombreux composés aldéhydiques ou cétoniques car les hydrazones sont habituellement peu solubles, cristallisent facilement et présentent un point de fusion assez net : la phénylhydrazine et ses dérivés nitrés (surtout les *p*-nitro- et dinitro-2,4-phénylhydrazines), les *o*-, *m*- et *p*-tolylhydrazines, les α- et β-naphtylhydrazines sont couramment employées par les analystes

La réaction (2) a été également mise à profit pour l'identification de composés carbonylés [150]. Il nous semble

préférable de désigner les hydrazones obtenues à partir des hydrazides par le terme d'« hydrazidones », proposé par Gautier et Pellerin [80] : on les distingue ainsi plus facilement des produits fournis par les hydrazines. Les hydrazides les plus utilisés en analyse fonctionnelle sont représentés principalement par le benzhydrazide et ses dérivés [45, 46, 169, 168] et le β-naphtylhydrazide. Rappelons également les réactifs de Girard et Sandulesco (réactif T ou chlorure de triméthylacéthydrazide ammonium et le réactif P ou chlorure d'acéthydrazide pyridinium) utilisés pour la séparation et la caractérisation des hormones stéroliques [85], l'hydrazide nicotinique [187] et le dihydrazide lutidine-2,6-dicarboxylique-3,5 [188].

L'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique va donc réagir lui aussi sur les composés carbonylés et donner des *iso*nicotinylhydrazidones (*). Depuis la découverte du pouvoir tuberculostatique de l'I. N. H., un nombre considérable d'*iso*nicotinylhydrazidones ont été rapportées, aussi bien à partir de composés aldéhydiques que cétoniques, appartenant aux séries aliphatique, cyclanique, aromatique, alicyclique ou hétérocyclique. Plusieurs *iso*nicotinylhydrazidones ont montré des propriétés inhibitrices vis-à-vis du *Mycobacterium tuberculosis*, d'autant plus intéressantes que les produits de condensation de l'I. N. H. avec les composés carbonylés sont en général moins toxiques que le composé initial. Sah et Peoples ont préconisé l'hydrazide *iso*nicotinique comme réactif de caractérisation des composés carbonylés et ont préparé récemment plus de quatre-vingt-dix *iso*nicotinylhydrazidones différentes [171].

L'action de l'isoniazide sur les composés carbonylés ne présente pas qu'un intérêt théorique ou analytique car les cétones et les aldéhydes sont nombreux parmi les principes immédiats biologiques. Dans le cycle de Krebs notamment, véritable plaque tournante du métabolisme intermédiaire

(*) Ou encore *iso*nicotinoylhydrazones et non pas *iso*nicotinylhydrazones comme on le voit souvent dans la littérature.

où les produits de dégradation des glucides, des lipides et des protides se confondent et « pool » à partir duquel ces mêmes substances peuvent être synthétisées, l'acide pyruvique, l'acide oxalacétique et l'acide α-cétoglutarique possèdent tous le groupement carbonyle (fig. 35). Ces composés

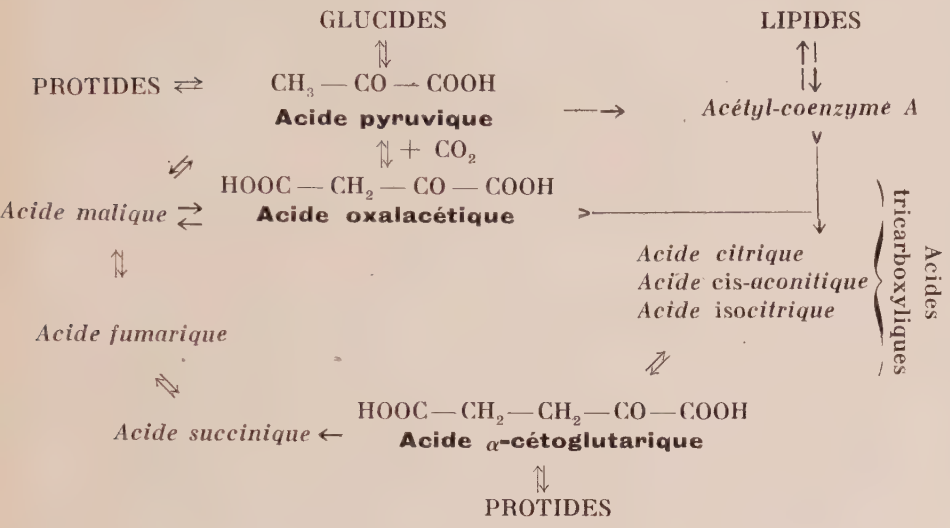

Fig. 35.

Cycle de Krebs (très schématisé).

Les composés carbonylés sont figurés en caractères gras.

sont probablement les points sensibles à l'action de l'isoniazide, capables de les mettre hors circuit sous forme des *iso*nicotinylhydrazidones correspondant. L'expérimentation apporte quelques confirmations à cette hypothèse puisque, chez le Rat, le tuberculostatique s'élimine partiellement sous la forme des hydrazidones de l'acide pyruvique et de l'acide α-cétoglutarique [197]. De plus l'acétone [172], l'acide pyruvique [172] et l'acide α-cétoglutarique [172, 153] inhibent *in vitro* l'action tuberculostatique de l'I. N. H. L'action compétitive du pyridoxal [153] peut également s'expliquer par la formation de l'*iso*nicotinylhydrazidone de ce facteur B_6.

Notre travail expérimental porte sur les points suivants :

— Application de la réaction de l'isoniazide sur les composés carbonylés à la diagnose microcristalloscopique de ce tuberculostatique (*);

— Réactions colorées avec le diacétyle et l'acétylacétone;

— Nouveaux sels organiques d'*iso*nicotinylhydrazidones;

— Action des composés carbonylés sur quelques tuberculostatiques dérivés de l'isoniazide.

I. — DIAGNOSE MICROCRISTALLOSCOPIQUE DE L'ISONIAZIDE

Les réactions d'identification microcristalline de l'isoniazide sont encore peu nombreuses. Amelinck [5] a décrit celles obtenues avec $PtCl_4$, PtI_4, $HgCl_2$, NO_3Ag, IH, le réactif de Dragendorff, les acides picrique et picrolonique. Neuzil [134] a rapporté la formation de dérivés cristallins caractéristiques avec l'alloxanne et l'isatine. Nous avons poursuivi ces investigations en recherchant, parmi les hydrazidones résultant de l'action de l'*iso*nicotinylhydrazide sur différents composés carbonylés, celles dont l'obtention se montre compatible avec des conditions favorables de diagnose microcristalloscopique :

— Emploi de réactifs en solution aqueuse;

— Précipitation rapide à la température ambiante;

— Cristaux de forme caractéristique.

Nos essais ont été réalisés en ajoutant à une solution aqueuse d'isoniazide (à 2 p. 100) le composé carbonylé, sous forme d'un égal volume de solution aqueuse (le plus souvent saturée). Nous n'avons pu, avec ces conditions expérimentales, obtenir de précipité cristallin avec de nombreuses substances carbonylées : formol, aldéhyde

(*) Une communication préliminaire a été présentée à la séance du 1er juillet 1953 de la Société de Pharmacie de Bordeaux [139].

*iso*butylique, aldéhyde heptylique, citral (*), citronellal, diéthylcétone, *iso*butylméthylcétone, acétylacétone, cyclohexanone, dimédon; les *iso*nicotinylhydrazidones de ces composés ont cependant été préparées dans plusieurs cas (**), dans des conditions expérimentales différentes. Au contraire, les substances que nous allons examiner maintenant nous ont donné des résultats positifs; la concentration limite en I.N.H. donnant une réaction intéressante a été recherchée pour plusieurs de ces hydrazidones.

A. — *Iso*nicotinylhydrazidone du diacétyle (I)

En raison de l'hydrosolubilité importante (***) du diacétyle (diméthylglyoxal), nous avons utilisé une solution aqueuse à 2 p. 100 de cette α-dicétone et non une solution saturée. A froid, on observe la formation très lente de cristaux microscopiques, de forme parallélépipédique. Au bain-marie bouillant, la réaction est beaucoup plus rapide et un précipité blanc cristallin se sépare après dix minutes environ de chauffage : il est constitué de gros oursins, formés eux-mêmes par l'agglomération d'éléments lamellaires (fig. 1, a). L'aspect général est cependant peu caractéristique. Le produit ainsi obtenu est la bis-*iso*nicotinylhydrazidone du diméthylglyoxal (F = 300° C.), antérieurement signalée par Yale et collaborateurs [195].

(*) On obtient un léger louche avec le citral, tandis que les autres mélanges restent parfaitement limpides.

(**) *Iso*nicotinylhydrazidones du méthanal (F = 175-176° C., déc. [116]), de l'aldéhyde *iso*butylique (F = 135-136° C. [195], F = 136,5-138° C. [73], F = 139-140° C. [171], F = 140-141° C. [123]), de l'aldéhyde heptylique (F = 96-97° C. [195], F = 98-99° C. [171], F = 101-102° C. [73], F = 101,7-102,5° C. [123]), de la diéthylcétone (F = 85-87° C. [195], F = 86-87° C. [171]), du citral (F = 130-131° C. [26], 134° C. [60], le chlorhydrate se décompose à 271-275° C. [171]), du citronellal (chlorhydrate, déc. = 289-290° C. [171]), de l'*iso*butylméthylcétone (F = 93-94° C. [123]), de la cyclohexanone (F = 163-164° C. [195], F = 167,5-169,5° C. [76], F = 170-172° C. [145, 25]), mono-*iso*nicotinylhydrazidone de l'acétylacétone (F = 131-133° C. [195]) et bis-*iso*nicotinylhydrazidone de l'acétylacétone (F = 254-256° C. [185]).

(***) 25 g p. 100 cm^3 d'eau à 15° C.

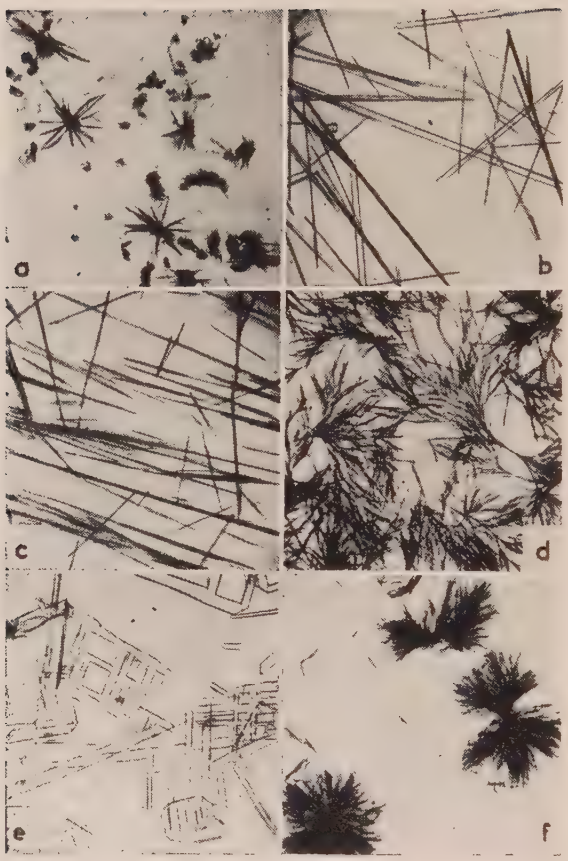

Fig. 36.

Aspect microscopique des *iso*nicotinylhydrazidones.

a, du diacétyle,
b, de l'aldéhyde *p*-diméthylaminobenzoïque,
c, de l'aldéhyde benzoïque,
d, de l'aldéhyde cinnamique,
e, de l'aldéhyde salicylique,
f, de l'aldéhyde protocatéchique.

B. — *Iso*NICOTINYLHYDRAZIDONE DU PIPÉRONAL (II)

Avec le pipéronal (héliotropine ou méthylène-dioxy-3,4-benzaldéhyde), le précipité blanc obtenu à froid apparaît constitué d'un très fin chevelu (fig. 37, c), particulièrement visible entre nicols croisés (fig. 37, d). Le produit a été recristallisé dans l'alcool et soumis à l'analyse élémentaire.

Analyse :

II, $C_{14}H_{11}N_3O_3$ (P M = 269, F = 236° C.).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	62,45	4,12	15,61
Trouvé	62,06	3,99	15,87

Cette hydrazidone a été également décrite par OFFE et collaborateurs [145]-F = 236° C., et par FOX et GIBAS [73] F = 237° C., et SAH et PEOPLES [171] F = 237-238° C.; elle manifeste encore un pouvoir tuberculostatique *in vitro* à la dilution 10^{-6} [145].

C. — *Iso*NICOTINYLHYDRAZIDONE DE L'ALDÉHYDE BENZOÏQUE (III)

Ce composé apparaît, même à froid, quelques minutes après la réalisation du mélange, sous forme d'un très abondant précipité constitué de belles aiguilles (fig. 36, c). On peut ainsi déceler, dans nos conditions expérimentales, jusqu'à 2 mg d'isoniazide (solution à 1 p. 1.000).

Cette hydrazidone est connue depuis longtemps : MEYER et MALLY [127], en décrivant pour la première fois l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique, l'ont signalée sans en préciser les caractéristiques physiques. Les différents auteurs qui l'ont préparée n'ont pas toujours trouvé des points de fusion identiques (F = 193-194° C. 195], F = 195-196° C. 30], F = 197-198° C. [113, 152], F = 199° C. 145], F = 199-200° C. 73], F = 201-202° C. [171]); l'unanimité est faite, au contraire, sur l'inhibition importante qu'elle manifeste vis-à-vis du B. K. [30, 145].

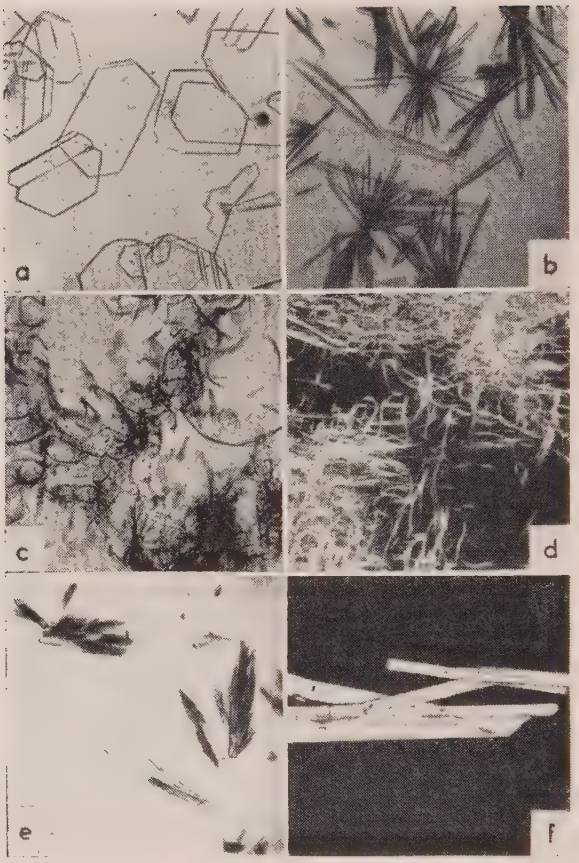

Fig. 37.

Aspect microscopique des *iso*nicotinylhydrazidones.

a, de l'aldéhyde furfurylique,
b, de la vanilline,
c, du pipéronal (lumière ordinaire),
d, du pipéronal (nicols croisés),
e, de l'acide D-galacturonique (voir texte),
f, de la benzylidène acétone.

D. — *Iso*NICOTINYLHYDRAZIDONE DE L'ALDÉHYDE *o*-NITROBENZOÏQUE (IV)

Le dérivé obtenu avec l'*o*-nitrobenzaldéhyde cristallise, à froid comme à chaud, en donnant de grandes aiguilles assez voisines de celles fournies par le produit III. La lenteur d'apparition des cristaux rend la réaction peu intéressante pour la diagnose microcristalloscopique de l'isoniazide.

Offe et collaborateurs [145] signalent pour cette hydrazidone un point de fusion F = 233° C., Sah et Peoples, F = 235-236° C. [170], et Poggi et collaborateurs [152], F = 254-255° C.; par ailleurs, si ce produit se montre tuberculostatique *in vitro* à la concentration de 10^{-7}, il n'est que faiblement actif sur la tuberculose expérimentale [145].

E. — *Iso*NICOTINYLHYDRAZIDONE DE L'ALDÉHYDE *p*-NITROBENZOÏQUE (V)

A la température du laboratoire, de grandes aiguilles jaunes apparaissent une heure environ après le mélange des réactifs; leur aspect microscopique présente une grande analogie avec celui des deux composés précédents.

Ce dérivé du *p*-nitrobenzaldéhyde a été étudié par Offe et collaborateurs, F = 269° C. [145], par l'équipe de Cavallini, F = 265-270° C. [30], par Shchukina et collaborateurs [voir 171], F = 280-282° C., et par Poggi et collaborateurs [152], F = 295-296° C.; ici encore, il s'agit d'un composé hautement actif *in vitro* sur le B. K. [145, 30].

F. — *Iso*NICOTINYLHYDRAZIDONE DE L'ALDÉHYDE *p*-DIMÉTHYLAMINOBENZOÏQUE (VI)

Cette hydrazidone se produit dans les mêmes conditions que le composé V et se présente également sous la forme d'aiguilles jaunes (fig. 36, b) fondant à 199° C. [21], à 200-201° C. [195, 145, 84] ou à 206-207° C. [171] et possédant

une fluorescence jaune en lumière ultraviolette. Ses propriétés tuberculostatiques se manifestent aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* [145].

Charonnat et Boime [36] ont remarqué que cette hydrazidone fournit un iodométhylate coloré en rouge (F = 225° C.). Les sels formés par action des acides chlorhydrique, acétique, bromhydrique [36] et *p*-aminosalicylique (F = 159° C.) [37] présentent la même coloration; les auteurs précités estiment que l'existence de ces sels d'hydrazidones permet d'expliquer le mécanisme de certaines méthodes de dosage colorimétrique de l'I. N. H. [101, 82, 176, 81] dans lesquelles on utilise l'action du *p*-diméthylaminobenzaldéhyde sur l'isoniazide en milieu acide. Pour d'autres chercheurs, au contraire [7, 22, 92], l'acide interviendrait en provoquant l'hydrolyse de l'I. N. H.; l'hydrazine ainsi libérée se combine alors à l'aldéhyde pour fournir une benzaldazine, comme l'ont montré Pesez et Petit [151]; en milieu acide, la forme quinonique de l'aldazine est fortement colorée et présente de plus, en lumière ultra-violette, une intense fluorescence [66].

G. — *Iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde anisique (VII)

L'aldéhyde anisique (méthoxy - 4 - benzaldéhyde), par action sur l'I. N. H., fournit à froid, après dix minutes de contact, de grandes aiguilles blanches constituant un très abondant précipité; l'hydrazidone ainsi formée se montre très peu soluble et cette réaction permet de déceler le médicament dans une solution en contenant 250 mg par litre; l'hydrazidone présente une légère fluorescence bleue en lumière ultraviolette.

Les cristaux sont constitués par un monohydrate de l'hydrazidone, comme le prouve l'analyse élémentaire.

Analyse :

VII, $C_{14}H_{13}N_3O_2$, H_2O (P M = 273).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	61,53	5,49	15,00
Trouvé	61,28	5,28	15,50
—	61,33	5,60	15,26

L'hydrate, par chauffage au-dessus de 107° C., perd son eau pour donner l'hydrazidone anhydre décrite par d'autres auteurs et dont le point de fusion est encore peu précisé (F = 165° C. [26], F = 168° C. [145], F = 169-170° C. [113], F = 171,5-173,5° C. [73] et F = 172-173° C. [178]). Ce produit manifeste vis-à-vis du B. K. la même activité que le composé IV [145].

H. — *Iso*NICOTINYLHYDRAZIDONE DE L'ALDÉHYDE SALICYLIQUE (VIII)

L'hydrazidone que donne avec l'isoniazide le salicylaldéhyde apparaît particulièrement intéressante, car elle s'insolubilise rapidement, à froid, même avec des solutions diluées du tuberculostatique (limite : 250 mg/litre). En outre, ses cristaux possèdent une morphologie microscopique très caractéristique (fig. 36, e). Nous avons effectué une recristallisation dans l'alcool et obtenu un produit dont l'analyse élémentaire a confirmé la constitution :

Analyse :

VIII, $C_{13}H_{11}N_3O_2$ (P M = 241; F = 246° C.).

	% C	% H	% N
Calculé	64,72	4,60	17,42
Trouvé	64,66	4,75	17,38

Ce produit a déjà fait l'objet de nombreuses investigations. Tandis que certains se sont attachés à la détermination de ses constantes physiques (F = 242,5° C. [30], F = 243° C. [113], F = 247° C. [145], F = 251° C. [21], F = 252-253° C. [171] et F = 265-266° C. [152]) ou ont signalé sa fluorescence (*) en milieu neutre qui disparaît en milieu acide [65], d'autres ont étudié ses propriétés tuberculostatiques *in vitro* [145, 29] et *in vivo* [118], ainsi que sa toxicité [118]. GARATTINI a remarqué, en outre, que cette hydrazidone manifestait une certaine activité sur des germes résistants à l'I. N. H., activité certes faible, mais supérieure cependant à celle qui pourrait être exercée par l'isoniazide contenue dans la molécule [76].

(*) Le salicylaldéhyde fournit avec l'hydrazine des aldazines qui manifestent également une forte fluorescence [73].

I. — *Iso*NICOTINYLHYDRAZIDONE DE L'ALDÉHYDE PROTOCATÉCHIQUE (IX)

Le mélange des réactifs est suivi rapidement, à froid, d'un abondant précipité formé de houppes cristallines jaune-vert (fig. 36, f). La réaction est assez sensible, permettant de caractériser l'isoniazide en solution à 0,5 p. 1.000.

Nous avons recueilli et recristallisé le précipité en milieu hydroalcoolique; les cristaux sont ceux du monohydrate.

Analyse :

IX, $C_{13}H_{11}N_3O_3$, H_2O (PM = 275; F = 248° C.).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	56,72	4,72	15,20
Trouvé	56,61	4,94	15,30
—	56,17	4,89	14,51

La légère différence entre la composition théorique et les résultats fournis par l'analyse doit être rattachée à la déshydratation facile du produit et à son oxydabilité, due à la présence du groupement *o*-diphénol. Le produit présente un point de fusion net à 248° C., mais on observe le départ d'eau pour une température bien inférieure. Nous n'avons pas trouvé dans la littérature mention de cette *iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde protocatéchique (dihydroxy-3,4-benzaldéhyde). Seuls GEMEINHARDT et RANGNICK [81] ont signalé l'obtention d'une coloration jaune par chauffage de l'aldéhyde avec l'isoniazide en milieu acide.

J. — *Iso*NICOTINYLHYDRAZIDONE DE LA VANILLINE (X)

Avec la vanilline (hydroxy-4-méthoxy-3-benzaldéhyde) on obtient, à froid, de très nombreux oursins d'aspect peu typique; la sensibilité est la même que pour le composé IX;

après recristallisation dans l'alcool, on observe l'aspect de la figure 37, b.

Cette hydrazidone a également été décrite par Meyer et Mally (F = 218° C.) [127] et, plus récemment, par Shchukina et collaborateurs [178], Libermann et collaborateurs [113] (F = 225° C.) et par Poggi et collaborateurs [152] (F = 218-219° C.), et probablement par Fox et Gibas (F = 229,5-230° C.) [73], bien que la formule figurant dans le mémoire de ces derniers auteurs soit celle de l'hydroxy-4-méthoxy-2-benzaldéhyde. Engelund et collaborateurs ont proposé cette hydrazidone comme dérivé d'identification de l'isoniazide (F = 228-230° C.) [62].

K. — *Iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde cinnamique (XI)

La formation rapide de ce dérivé à la température du laboratoire, sa faible solubilité et sa morphologie très caractéristique (fig. 36, d) rendent cette réaction très précieuse en microcristalloscopie : les solutions d'isoniazide à 250 mg/litre réagissent encore très bien.

Ce composé a été décrit par Fox et Gibas (F = 201-202° C. [73]), Buu-Hoï et collaborateurs (F = 201° C. [21]), Sah et Peoples (F = 201-202° C. [171]) et par Offe et collaborateurs (F = 202° C. [145]) ; ces derniers signalement, en outre, ses propriétés tuberculostatiques *in vitro* et *in vivo*.

L. — *Iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde furfurylique (XII)

Les plaques hexagonales de ce composé sont très typiques (fig. 2, a), mais l'intérêt de cette réaction se trouve limité par sa faible sensibilité : les solutions d'I. N. H. ne réagissent en effet que pour des concentrations égales ou supérieures à 0,5 p. 100.

Ici encore, il s'agit d'un dérivé de l'isoniazide déjà connu [95] et étudié par Fox et Gibas (F = 217-218° C. [73]), Offe et collaborateurs (F = 216° C. [145]), Cavallini et collaborateurs (F = 216-216,5° C. [30]), Sah et Peoples (F = 215-216° C. [171]) et Beyerman et collaborateurs (F = 211-212° C. [16]). Il apparaît bien moins actif sur le B. K. *in vivo* [145] qu'*in vitro* [145, 29].

M. — Produit de condensation de l'isoniazide et de l'acide *D*-galacturonique (XIII)

Une solution aqueuse d'acide galacturonique à 2 p. 100, mélangée à froid à un volume égal de solution d'isoniazide à la même concentration, ne donne lieu à la formation d'aucun précipité. A la température du bain-marie, on observe, au contraire, la séparation des cristaux jaunâtres (fig. 37, e), que nous avons recueillis et soumis à l'analyse.

On peut penser qu'il s'agit de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide galacturonique, dont la structure est représentée sur la figure 38.

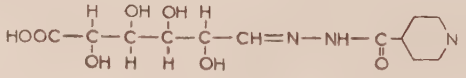

Fig. 38.

*Iso*nicotinylhydrazidone de l'acide *D*-galacturonique.

Nos résultats correspondent au monohydrate de ce produit :

Analyse :

XIII, $C_{12}H_{15}N_3O_7$, H_2O (P M = 331; F = 265° C.).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	43,50	5,13	12,68
Trouvé	43,54	5,20	12,38
—	43,43	5,19	12,63

L'hydrazidone anhydre a été préparée en milieu hydrométhanolique par Sah et Peoples [170]; ces auteurs ont remarqué que leur produit, en solution chlorhydrique 0,2 N, présente le phénomène de mutarotation; or, ce comportement optique semble incompatible avec la structure précédente, dans laquelle le premier carbone de l'acide galacturonique n'est pas asymétrique. Nous sommes donc enclins à identifier le composé XIII, non pas à une hydrazidone,

mais à une hydrazine N, N'-disubstituée, la N-*iso*nicotinyl-N'-(1-*D*-galacturonyl) hydrazine, de même formule globale $C_{12}H_{15}N_3O_7$, H_2O (fig. 39).

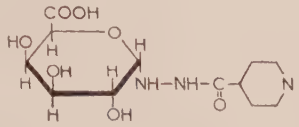

Fig. 39.

N-*iso*nicotinyl-N'-(1-*D*-galacturonyl) hydrazine.

L'union de l'acide galacturonique s'effectuerait donc grâce à une liaison osidique entre le groupement $-NH_2$ terminal de l'isoniazide et l'hydroxyle réducteur pseudo-acétalique de l'acide uronique. L'obtention d'hydrazines N, N' disubstituées par action directe de composés carbonylés sur l'isoniazide a déjà été signalée dans le cas du chloral [195], de l'acide pyruvique [195] et de l'alloxanne [135]. Il convient de remarquer cependant que les résultats polarimétriques obtenus par Sah et Peoples *(loc. cit.)* peuvent également s'interpréter par la mutarotation de l'acide galacturonique libéré par hydrolyse du produit XIII : comme nous le verrons bientôt, certaines hydrazidones apparaissent instables en milieu aqueux [38]; de plus, les mesures des auteurs californiens ont été réalisées en milieu nettement acide.

Une étude biologique de ce produit a été réalisée par Peoples, travail en cours cité par Sah et Peoples [171].

N. — *Iso*nicotinylhydrazidone de la benzylidène acétone (XIV)

Nous n'avons obtenu aucun résultat positif en mettant en œuvre une solution aqueuse saturée de benzylidène

acétone. Nous avons pu, cependant, préparer son *iso*nicotinylhydrazidone; le mélange :

Solution à 20 p. 100 de benzylidène acétone dans l'éthanol ..... 10 cm_3
I. N. H. en solution aqueuse à 4 p. 100 ..... 8 cm_3

fournit, après une à deux heures, un abondant précipité jaune constitué de grosses aiguilles (fig. 37, f) que nous avons recristallisées dans l'alcool avec un bon rendement.

Analyse :

XIV, $C_{16}H_{15}N_3O$ (P M = 265; F = 193-194° C.).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	72,43	5,70	15,84
Trouvé	72,62	5,83	15,70

Cette hydrazidone a été décrite après nous par Sah et Peoples [171] qui ont trouvé comme point de fusion F = 190-191° C. Les dérivés de la benzylidène acétone paraissent des tuberculostatiques intéressants, notamment la thiosemicarbazone synthétisée par Nishimura [143].

*
**

Les hydrazidones obtenues avec les aldéhydes salicylique et cinnamique semblent donc les plus intéressantes pour la diagnose microcristalloscopique de l'isoniazide, tant à cause de l'aspect caractéristique des cristaux que de la sensibilité de la réaction : elles sont réalisables avec une seule goutte d'une solution à 250 mg par litre du tuberculostatique, permettant de caractériser 15 γ d'I. N. H.

II. — RÉACTIONS COLORÉES DE L'ISONIAZIDE

Les quatre réactions colorées décrites ci-dessous sont également basées sur l'action de l'I. N. H. sur des composés carbonylés.

A. — Réaction colorée avec le diacétyle

Une solution à 1 p. 100 de cette α-dicétone, alcalinisée par addition de 2,5 p. 100 de carbonate de sodium, montre une augmentation très appréciable de sa faible teinte jaune initiale lorsqu'on lui ajoute un demi-volume d'une solution d'I. N. H. de concentration supérieure à 0,1 p. 1.000. La coloration obtenue s'avère instable et l'on note l'apparition progressive d'un brunissement du milieu qui provient probablement de l'oxydation du diacétyle, car le changement de teinte débute à la surface du liquide, même en l'absence d'isoniazide; cette modification se produit très rapidement à chaud.

B. — Réaction colorée avec l'acétylacétone

Lorsqu'on mélange, à volume égal, deux solutions aqueuses contenant respectivement 5 p. 100 d'acétylacétone et 2 p. 100 d'I. N. H., on observe l'apparition d'une belle coloration jaune d'or qui s'atténue par chauffage au bain-marie bouillant. La même réaction, effectuée à froid en présence de carbonate de sodium à la concentration de 1,6 p. 100, conduit à une coloration jaune moins intense qu'en milieu neutre : mais le chauffage entraîne ici, au contraire, un renforcement considérable de la coloration.

L'addition au mélange acétylacétone-I. N. H. de perchlorure de fer (réaction de Gerhardt), de nitrate cuivrique ou de nitroprussiate de sodium puis de soude (réaction de Legal) conduit à des colorations différentes (*) de celles que fournissent isolément l'I. N. H. et l'acétylacétone avec ces réactifs; ces colorations se montrent peu caractéristiques et d'autant moins intéressantes du point de vue analytique qu'elles dépendent des proportions relatives de la β-dicétone et d'isoniazide.

(*) Ou même à des précipités différents dans le cas du nitrate cuivrique.

C. — Réactions colorées avec des colorants azoïques a groupement aldéhydique libre

En 1934, Feigl, Anger et Zappert [67] ont proposé l'utilisation d'indicateurs colorés à fonction aldéhydique libre pour l'identification des dérivés hydraziniques qui fournissent ainsi des hydrazones de teinte caractéristique. Deux colorants de cette série sont actuellement fabriqués par J. R. Geigy S. A. (Bâle), le « G-orange » (*) et le « Rouge chromazone » ; comme le montre la figure 40, ce sont les sels de sodium des monoazoïques (**) qui résultent de la copulation du *p*-aminobenzaldéhyde avec respectivement l'acide hydroxy - 2 - naphtalène disulfonique - 6 - 8 (acide G) et l'acide dihydroxy-1-8-napthalène disulfonique-3-6 (acide chromotropique). Le G-orange et le rouge chromazone viennent d'être préconisés comme indicateurs colorés dans la titration des hydrazines et des aldéhydes [126].

Fig. 40.

Monoazoïques à fonction aldéhydique libre.

A, G-orange.
B, rouge chromazone.

Une solution aqueuse à 0,2 p. 100 de G-orange présente une coloration jaune orangée qui vire au rouge lorsqu'on la chauffe avec de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique, à la concentration de 1 p. 100 en milieu neutre (*p*H = 7,1).

(*) Ne pas confondre avec l'orangé-G.

(**) La chromatographie sur papier (phase solvante : acétate d'éthyle, pyridine, eau, 2 : 1 : 2) révèle l'hétérogénéité des colorants du commerce [137]. Nous poursuivons actuellement l'étude de la réactivité des colorants purifiés [138].

L'alcalinisation du mélange entraîne une modification de la coloration qui devient plus foncée, mais une telle réaction se produit également en l'absence d'isoniazide; au contraire, tandis que l'acidification de la solution aqueuse de G-orange fait virer au jaune la teinte rouge orangée initiale, la même opération, effectuée en présence d'isoniazide, fournit à *p*H = 3,8 un précipité rouge (tableau I).

Dans des conditions identiques, la solution rouge-vif de rouge chromazone vire au rouge violacé sous l'influence de l'I. N. H.; la coloration fonce en milieu alcalin, en présence d'isoniazide ou non; l'acidification fournit une teinte jaune avec le réactif seul et une teinte rose dans le mélange contenant de l'isoniazide (tableau I).

TABLEAU I

RÉACTIONS COLORÉES DE L'ISONIAZIDE AVEC LE G-ORANGE ET LE ROUGE CHROMAZONE

	G-orange			Rouge chromazone		
	Milieu neutre	Milieu alcalin	Milieu acide	Milieu neutre	Milieu alcalin	Milieu acide
Colorant seul	Jaune orangé	Rouge foncé	Jaune	Rouge vif	Rouge foncé	Jaune
Colorant plus isoniazide	Rouge	Rouge foncé	Précipité rouge	Rouge violacé	Rouge foncé	Rose

III. — NOUVEAUX SELS ORGANIQUES D'*ISO*NICOTINYLHYDRAZIDONES

Dans la molécule d'*iso*nicotinylhydrazidone, le composé carbonylé s'est combiné à la chaîne hydrazidique de l'isoniazide, mais l'azote hétérocyclique du noyau pyridinique est libre et va pouvoir manifester toute sa réactivité (voir

plus haut, p. 31). Quelques N-dérivés des *iso*nicotinylhydrazidones ont déjà été signalés. Yale et ses collaborateurs [195] ont décrit le N-oxyde des *iso*nicotinylhydrazidones de l'acétone (F = 184-186° C.) et du *n*-heptaldéhyde (F = 146-147° C.); la benzal*iso*nicotinylhydrazidone se transforme facilement en iodométhylate (F = 152° C. [36]),

TABLEAU II

Sels minéraux d'*iso*nicotinylhydrazidones.

Acide	Composé carbonylé	F, ° C.	Auteurs
HCl	Citral	271-275, déc.	[171]
HCl	Citronellal	289-290, déc.	—
HCl	Glyoxal	360	[12]
HCl	Benzaldéhyde		[36]
HCl	*p*-Diméthylaminobenzaldéhyde		—
HCl	Salicylaldéhyde		[192]
HCl	Aldéhyde vératrylique	229-230, déc.	[171]
HCl	Phénylacétaldéhyde	245-246, déc.	—
HCl	Méthylhexylcétone	306-310, déc.	—
HCl	Lévulinate d'éthyle	266-268, déc.	—
HCl	Acétoacétate d'éthyle	275-285, déc.	—
HCl	Méthyl-2-cyclohexanone	285-286, déc.	—
HCl	Méthyl-3-cyclohexanone	285-290, déc.	—
HCl	Méthyl-4-cyclohexanone	268-270, déc.	—
HCl	Menthone	296-300, déc.	—
HCl	α-Ionone	245-246, déc.	—
HCl	Phénylacétone	279-280, déc.	—
HCl	Dibenzylcétone	275-276, déc.	—
BrH	*p*-Diméthylaminobenzaldéhyde		[36]
Sulfurique	Glyoxal	323, déc.	[12]
Silicotungstique	Vanilline		[192]
Silicotungstique	Aldéhyde cinnamique		—

en chlorobenzylate (F = 226° C. [110]) ou en bromocétylate [110]; l'iodure de la N-méthyl*iso*nicotinylhydrazidone du *p*-diméthylaminobenzaldéhyde est également connu (F = 225° C. [36]).

Devant la difficulté de préparation de certaines *iso*nicotinylhydrazidones, on a cherché parfois à obtenir ces dérivés sous la forme d'un sel minéral; le tableau II rassemble les quelques exemples que nous avons trouvés dans la littérature.

Les sels organiques d'*iso*nicotinylhydrazidones sont encore moins nombreux. Certains ont été préparés dans un but analytique : Wachsmuth [192] a montré que la précipitation de l'I. N. H. par la vanilline était favorisée par l'acide acétique et par l'acide picrique; ce même auteur a noté la faible solubilité des picrates d'*iso*nicotinylhydrazidones de la vanilline, de l'acétone et de la méthyléthylcétone, comme celle des flavianates des *iso*nicotinylhydrazidones de l'acétone et de la méthyléthylcétone. Au cours de leur étude sur le *p*-aminosalicylate d'isoniazide, Charonnat et Boime [37] ont remarqué que ce sel d'I. N. H. pouvait encore réagir sur les composés carbonylés et ont préparé les *p*-aminosalicylates des *iso*nicotinylhydrazidones de l'acétone (F = 181° C.) et du *p*-diméthylaminobenzaldéhyde (F = 159° C).

Nous avons réalisé la synthèse de plus de cinquante nouveaux sels organiques de diverses *iso*nicotinylhydrazidones. Ces composés sont, dans l'ensemble, peu solubles dans l'eau; nous verrons, en outre, que certains d'entre eux présentent un pouvoir tuberculostatique assez notable. Il semble que ces dérivés de l'I. N. H. méritent d'être étudiés d'une manière systématique dans le traitement de la tuberculose, car leur faible solubilité doit entraîner une résorption intestinale lente : ils seraient donc particulièrement indiqués comme médicaments retard et également dans certaines formes de tuberculose intestinale. Nous n'avons malheureusement pas eu le temps matériel de mettre en route de telles investigations.

A. — Benzène sulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones

Nous avons signalé plus haut que le benzène sulfonate d'I. N. H. ne précipite que lorsqu'on opère en milieu purement alcoolique (voir p. 34) ; en milieu hydroalcoolique, le mélange d'I. N. H. et d'isoniazide reste homogène. Nous nous sommes basé sur ces résultats pour préparer divers benzène sulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones. Le protocole suivant a été habituellement employé :

Acide benzène sulfonique. 8 mM
Isoniazide ..... 4 mM } dans 12 cm³ d'eau.
Composé carbonylé..... 3 mM dans 15 cm³ d'alcool.

Toutefois, pour la préparation des dérivés de l'alloxanne, de l'acide galacturonique et de l'isatine, ces derniers composés ont été dissous dans 5 cm³ d'eau pour les deux premières substances, et dans 20 cm³ d'alcool pour la dernière.

Composé carbonylé	F, ° C.	Aspect	Aspect en U V
Aldéhyde *o*-nitrobenzoïque....	233	Cristaux peu colorés.	0
Aldéhyde *p*-nitrobenzoïque....	244	Poudre laineuse jaune clair.	0
Aldéhyde salicylique.....	204	Cristaux jaune clair.	Fluor. jaune.
Aldéhyde anisique.....	200	Cristaux jaune citron.	Fluor. jaune paille.
p-Diméthylaminobenzaldéhyde.	152-153	Aiguilles brun-rouge.	0
Aldéhyde protocatéchique.....	164	Orangé.	0
Vanilline	164	Cristaux orangé.	0
Héliotropine	165	Cristaux jaune vif.	0
Aldéhyde cinnamique.....	145	Poudre jaune.	Fluor. jaune.
Furfural	202	Jaune-vert clair.	Fluor. jaune vif.
Alloxanne	310, déc.	Poudre beige.	0
Isatine	277, déc.	Crist. brun-orangé.	Fluor. rouge sombre.
Acide galacturonique.....	270, déc. avec résidu	Poudre blanche.	0

On remarquera que l'isoniazide se trouve en excès par rapport au composé carbonylé et que l'acide benzène sulfonique est lui-même en excès par rapport à l'isoniazide.

Nous avons réuni dans le tableau ci-dessus les principales caractéristiques des benzène sulfonates que nous avons préparés.

Le benzène sulfonate de la benzal*iso*nicotinylhydrazidone n'a pas précipité, malgré des essais effectués dans différentes conditions expérimentales. Nous avons pu contrôler l'identité de plusieurs composés du tableau ci-dessus par l'analyse élémentaire :

Benzène sulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'*o*-nitrobenzaldéhyde,

$C_{13}H_{10}O_3N_4$, $C_6H_6O_3S$, 1/2 H_2O (P M = 437) :

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	52,17	3,89	12,81
Trouvé	52,60	3,93	12,98
—	52,78	3,91	12,96

Benzène sulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde anisique, $C_{14}H_{13}O_2N_3$, $C_6H_6O_3S$ (P M = 413) :

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé			10,16
Trouvé			10,03
—			10,03

Benzène sulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde *p*-diméthylaminobenzoïque,

$C_{15}H_{16}ON_4$, $C_6H_6O_3S$, 2 H_2O (P M = 462) :

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	54,54	5,67	12,12
Trouvé	54,97	5,64	11,80
—	55,28	5,74	11,77

Benzène sulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde protocatéchique,

$C_{13}H_{11}O_3N_3$, $C_6H_6O_3S$, 2 H_2O (P M = 451) :

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	50,55	4,66	9,31
Trouvé	50,20	5,06	9,94
—	50,53	5,27	9,84

Benzène sulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de la vanilline, $C_{14}H_{13}O_3N_3$, $C_6H_6O_3S$, 2 H_2O (P M = 465) :

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	51,61	4,98	9,03
Trouvé	52,43	4,76	8,85
—	52,63	4,96	8,83

Benzène sulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'héliotropine, $C_{14}H_{11}O_3N_3$, $C_6H_6O_3S$ (P M = 427) :

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	56,21	4,01	
Trouvé	56,16	4,32	
—	56,09	4,50	

Benzène sulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde cinnamique,

$C_{15}H_{13}ON_3$, $C_6H_6O_3S$, 3 H_2O (P M = 463) :

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	54,42	5,44	9,07
Trouvé	54,71	5,13	8,94
—	54,66	5,35	9,16

Benzène sulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du furfural,

$C_{11}H_9O_2N_3$, $C_6H_6O_3S$ (P M = 373) :

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	54,69	4,05	11,26
Trouvé	54,67	4,11	11,36
—	54,67	4,17	11,25

B. — *p*-Toluène sulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones

Si le *p*-toluène sulfonate d'isoniazide a déjà été décrit par Yale et ses collaborateurs [195], aucun sel d'*iso*nicotinylhydrazidones de ce type n'a encore été mentionné dans la littérature chimique.

Nous avons préparé plusieurs *p*-toluène sulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones, en milieu hydroalcoolique ou en milieu aqueux lorsque le composé carbonylé n'était pas soluble dans l'alcool; le protocole était calqué sur le précédent.

Composé carbonylé	F, ° C.	Aspect	Aspect en U V
Aldéhyde *o*-nitrobenzoïque....	230, déc.	Poudre jaune clair.	0
Aldéhyde *p*-nitrobenzoïque....	190-192, déc.	Poudre jaune clair.	0
Aldéhyde salicylique.....	221	Jaune clair.	Fluor. jaune.
Aldéhyde anisique.....	210	Cristaux jaune.	Légère fluor. jaune.
p-Diméthylaminobenzaldéhyde.	232	Crist. rouge-carmin.	0
Aldéhyde protocatéchique.....	185	Crist. brun-orangé.	0
Vanilline	165	Crist. jaune-orangé.	0
Héliotropine	227-234, déc.	Jaune.	Légère fluor.
Aldéhyde cinnamique.....	230	Jaune.	Fluor. jaune int.
Furfural	211	Poudre jaune-vert.	Fluor. jaune vif.
Alloxanne	330, déc.	Poudre beige.	0
Isatine	258, déc.	Cristaux orangé.	Fluor. brun-rouge.
Pyruvate de sodium.....	228	Cristaux blancs.	0

L'analyse élémentaire de deux composés de la série précédente a pu être effectuée (*).

(*) Les analyses élémentaires des autres composés paraîtront ultérieurement [142]. Il en est de même pour les sels organiques d'*iso*nicotinylhydrazidones décrits plus loin.

p-Toluène sulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de la vanilline, $C_{14}H_{13}O_3N_3$, $C_7H_8O_3S$, H_2O (P M = 461) :

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	54,66	5,02	9,11
Trouvé	54,87	4,90	9,57
—	54,96	4,79	9,40

p-Toluène sulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du furfural, $C_{11}H_9O_2N_3$, $C_7H_8O_3S$ (P M = 387) :

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	55,80	4,42	10,85
Trouvé	55,97	4,93	11,06
—	56,20	4,89	10,81

C. — *o*-Toluène sulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones

Le protocole adopté ici a été légèrement modifié par rapport aux deux séries précédentes :

Acide *o*-toluène sulfonique.....	4 mM
Isoniazide	3 mM
Composé carbonylé	3 mM

Les deux premières substances ont été dissoutes dans 12 cm³ d'eau, la dernière dans 15 cm³ d'alcool, sauf pour les composés carbonylés non alcoolosolubles.

Composé carbonylé	F, ° C.	Aspect	Aspect en U V
Aldéhyde anisique.....	250, déc.	Cristaux jaune.	Fluor. jaune-orangé.
p-Diméthylaminobenzaldéhyde.	223	Crist. carmin foncé.	0
Aldéhyde cinnamique.....	220, déc.	Cristaux jaune.	Fluor. jaune-orangé.
Furfural	216	Crist. blanc-jaune.	Fluor. jaune vif.
Isatine	273, déc.	Crist. brun-orangé.	0

D. — *m*-Nitrobenzène sulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones

Le protocole adopté est celui utilisé pour la synthèse des benzène sulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones. Le *m*-nitrobenzène sulfonate d'isoniazide a été décrit plus haut (voir p. 37).

Composé carbonylé	F, °C.	Aspect	Aspect en U V
ldéhyde *o*-nitrobenzoïque....	217	Crist. jaune clair.	0
ldéhyde salicylique.....	218	Cristaux jaune.	Fluor. jaune.
ldéhyde anisique.....	187	Cristaux jaune.	Fluor. jaune-orangé.
-Diméthylaminobenzaldéhyde.	200	Crist. carmin foncé.	0
ldéhyde protocatéchique.....	136	Poudre beige.	0
éliotropine	229	Crist. jaune clair.	0
ldéhyde cinnamique.....	224	Cristaux jaune.	Fluor. jaune-orangé.
urfural	218	Cristaux jaune.	Intense fluor. jaune.
lloxanne	263, déc.	Poudre beige.	0
satine	270, déc.	Crist. brun-orangé.	0

Nous avons également essayé de préparer le *m*-nitrobenzène sulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de la vanilline : ce sel précipite en milieu hydroalcoolique à basse température sous forme de cristaux jaune-orangé, mais se redissout avec la plus grande facilité dès que la température s'élève; c'est la raison pour laquelle nous avons été gêné pour recueillir ce produit en quantité suffisante.

E. — Trichloracétates d'*iso*nicotinylhydrazidones

C'est en opérant en milieu hydroalcoolique, avec des quantités stoechiométriques d'acide trichloracétique, d'isoniazide et de composé carbonylé que nous avons obtenu

les meilleurs résultats. On se souviendra (voir plus haut, p. 37) que la grande solubilité du trichloracétate d'isoniazide ne nous avait pas permis d'isoler ce sel du tuberculostatique.

Composé carbonylé	F, ° C.	Aspect	Aspect en U V
Aldéhyde *o*-nitrobenzoïque....	230, déc.	Cristaux jaune clair.	0
Aldéhyde salicylique.....	235, déc.	Cristaux jaune-vert.	0
Aldéhyde anisique.....	169	Cristaux jaune.	Forte fluor. jaune.
p-Diméthylaminobenzaldéhyde.	198	Cristaux carmin.	0
Aldéhyde protocatéchique.....	266	Crist. jaune-orangé.	0
Vanilline	223-230, déc.	Crist. blanc-jaune.	0
Héliotropine	210-215, déc.	Cristaux jaune.	Fluor. blanc vif.
Aldéhyde cinnamique.....	184-195, déc.	Cristaux jaune.	Fluor. jaune-orangé.
Furfural	184, déc.	Cristaux jaune.	0
Alloxanne	330, déc.	Poudre beige rosée.	0
Isatine	329, déc.	Crist. brun-orangé.	0

F. — Fluorescence des sels organiques d'*iso*nicotinylhydrazidones

Nous avons signalé plus haut que l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde salicylique, en milieu neutre, présente une intense fluorescence en lumière ultra-violette (voir p. 51) ; la fluorescence disparaît en milieu acide. Il est donc intéressant de souligner que les sels organiques de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde salicylique que nous avons décrits ci-dessus sont tous fluorescents, à l'exception toutefois du trichloracétate. La fluorescence de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde anisique se retrouve également dans ses sels organiques.

Les aldéhydes cinnamique et furfurylique présentent un comportement différent : tandis que leur *iso*nicotinylhydra-

zidone est absolument dépourvue de toute fluorescence, les sels organiques de ces derniers produits présentent au contraire des fluorescences parfois très intenses, sauf toutefois pour le trichloracétate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du furfural.

G. — Sels organiques de l'*iso*nicotinylhydrazidone du *p*-diméthylaminobenzaldéhyde

Nous avons cherché à obtenir plusieurs sels organiques de l'*iso*nicotinylhydrazidone du *p*-diméthylaminobenzaldéhyde en employant le protocole opératoire suivant :

p-Diméthylaminobenzaldéhyde ..	5 mM	dans 7,5 cm³ d'alcool.
Isoniazide	4 mM	dans 12 cm³ d'eau.
Acide organique	8 mM	

Avec les acides acétique, monochloracétique, dichloracétique, cyanacétique, formique, lactique, mandélique, maléique et malonique, on observe, dès la réalisation du mélange, l'apparition d'une coloration jaune-orangé, plus ou moins marquée selon l'acide examiné. Après quelques minutes, un précipité apparaît, formé de cristaux jaunes. Avec les acides dichloracétique et maléique, on observe, au contraire, des cristaux de teinte rouge. Nous nous sommes aperçu que ces précipités étaient hétérogènes et qu'au cours de la recristallisation plusieurs cristaux de coloration différente s'insolubilisaient.

Une mention particulière doit cependant être faite pour l'essai avec l'acide maléique : après avoir recueilli un précipité rouge-orangé, les eaux-mères donnent naissance à de magnifiques cristaux rouge foncé (F = 193° C.). En modifiant le protocole précédent (essais en milieu purement alcoolique, modification des proportions relatives des trois réactifs), il ne nous a pas été possible d'obtenir à nouveau et directement les cristaux rouge foncé. Selon les conditions opératoires, nous avons isolé des cristaux

rouge-orangé de point de fusion différent (F = 198° C., F = 199° C., F = 205° C.).

H. — Pouvoir tuberculostatique des sels organiques d'*iso*nicotinylhydrazidones

Le premier problème qui se pose lorsqu'on veut réaliser une étude bactériostatique *in vitro* est celui de la solubilité des produits dans un solvant qui pourra s'incorporer au milieu de culture et qui n'aura pas d'influence propre sur la multiplication des bacilles.

Les sels d'hydrazidones que nous avons synthétisés ont une solubilité dans l'eau qui, pour un même acide, varie avec l'aldéhyde; la plupart d'entre eux sont assez peu solubles.

Ces sels sont cependant solubles dans un mélange eau distillée-glycol propylénique (20 à 50 p. 100 de glycol suivant les produits), mais pour les expériences dont nous donnons les résultats, c'est l'alcool éthylique qui a été finalement choisi. Nous avons vérifié qu'aux concentrations utilisées l'éthanol se montre sans influence sur la multiplication du B. K.

On dissout 1 mg du produit par cm^3 d'alcool à 95°, à l'aide de cette solution on réalise une solution mère à 10 γ/cm^3 dans l'eau physiologique stérile.

Résultats expérimentaux (*).

On a étudié le pouvoir tuberculostatique de quelques sels d'*iso*nicotinylhydrazidones sur la souche humaine R V 37 en milieu liquide de Youmans et sur milieu solide de Loewenstein (milieu tamponné à *p*H = 7,2-7,5).

(*) Ces résultats nous ont été communiqués par M. Brisou qui a réalisé l'étude tuberculostatique au Laboratoire d'Analyses Médicales, 1 ter, rue de la Tranchée, à Poitiers (Vienne).

1° *Etude effectuée en milieu liquide de Youmans :*

a) Benzène sulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones :

Composé carbonylé	γ/cm³	Aspect des cultures au 10e jour	Aspect des cultures au 20e jour
Vanilline	0,5	0	±
	1,5	0	±
Héliotropine	0,5	±	±
	1,5	±	0
Ald. anisique	0,5	0	++
	1,5	0	±
Ald. cinnamique	2,5	±	±
Ald. *p*-diméthylaminobenzoïque.	2,5	0	0

± = culture discrète;
++ = culture témoin au bout de dix jours.

Il est à noter que le benzène sulfonate d'isoniazide (voir p. 34) est totalement inactif sur le B. K., alors que les benzène sulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones que nous avons étudiés sont tuberculostatiques.

b) *p*-Toluène sulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones :

Composé carbonylé	γ/cm³	Aspect des cultures au 10e jour	Aspect des cultures au 20e jour
Vanilline	0,5	0	±
	1,5	0	0
Héliotropine	0,5	±	+
	1,5	0	+
Ald. anisique	0,5	±	±
	1,5	0	±
Ald. cinnamique	0,5	+	+
	1,5	0	0
Furfural	2,5	±	+
Ald. *p*-diméthylaminobenzoïque.	2,5	0	0
Ald. *p*-nitrobenzoïque	2,5	±	±
Ald. *o*-nitrobenzoïque	2,5	±	±

+ = culture discrète;
+ = culture moyenne.

2° *Etude sur milieu solide (technique Coletsos et Boisvert) :*

Pas de culture au vingtième jour avec 5 γ/cm³ des produits suivants :

Benzène sulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidone :
— De l'aldéhyde cinnamique;
— De l'aldéhyde *p*-diméthylaminobenzoïque;

p-Toluène sulfonate d'*iso*nicotinylhydrazidone :
— Du furfural;
— De l'aldéhyde *p*-diméthylaminobenzoïque;
— Des aldéhydes *o*-nitro et *p*-nitrobenzoïques.

Quelle peut être la valeur thérapeutique de ces produits ?

Les résultats précédents prouvent une activité tuberculostatique qui, sans atteindre celle de l'I. N. H., est tout de même appréciable. Il reste à préciser leur activité *in vivo* et aussi leur tolérance par l'animal d'expérience.

Les acides sulfoniques sont peu toxiques et l'on peut penser que la toxicité de ces produits est inférieure ou au plus égale à celle de l'I. N. H.; nous avons signalé antérieurement la diminution de la toxicité par blocage de la fonction hydrazidique par des composés carbonylés.

Ces avantages, joints à leur faible solubilité, pourraient les faire envisager comme médicaments retards utilisables dans les formes intestinales de la tuberculose.

Nous espérons que des études ultérieures pourront apporter une confirmation à ces hypothèses.

I. — Sulfosalicylates d'*iso*nicotinylhydrazidones

Nous avons rapporté dans le premier chapitre de notre partie expérimentale l'action de l'acide sulfosalicylique sur l'isoniazide et sur plusieurs dérivés pyridiniques, notamment sur le méthane sulfonate sodique de l'I. N. H., hydrazine N, N'-disubstituée utilisée en thérapeutique humaine.

Nous avons voulu voir l'action de ce même acide sulfosa-

licylique sur deux *iso*nicotinylhydrazidones également employées dans la thérapeutique de la tuberculose, l'*iso*nicotinylhydrazidone de la glycuronolactone (*) et l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide *m*-formylbenzène sulfonique (**). Si l'isoniazide s'est montré être un médicament peu toxique, l'injection à l'animal de fortes doses de ce tuberculostatique entraîne cependant un choc à manifestations tardives que l'on peut expliquer par la transformation en *iso*nicotinylhydrazidones de divers composés carbonylés naturels qui sont ainsi soustraits à leur métabolisme normal : il s'agirait donc d'un choc « carbonyloprive » [39] qui peut être en effet atténué ou même supprimé par l'injection préalable de certains métabolites carbonylés (pyruvate de sodium). Ceci nous explique l'utilisation de dérivés de l'I. N. H. dont la chaîne hydrazidique a été bloquée par union avec un composé carbonylé. Aussi, les deux tuberculostatiques précités apparaissent-ils moins toxiques que l'isoniazide dont ils dérivent.

L'*iso*nicotinylhydrazidone de la glycuronolactone (I. N. H. G. L., fig. 41), synthétisée par Sah [166] et par Passedouet et collaborateurs (F = 169-170° C., déc. [148]), a été expérimentée chez l'animal par Halpern [92] et a fait l'objet

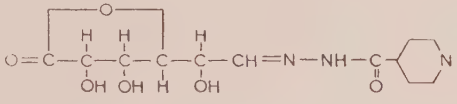

Fig. 41.

*Iso*nicotinylhydrazidone de la glycuronolactone (I. N. H. G. L.).

(*) Spécialisée sous le nom de « Mycobactyl » par les Laboratoires Grimault, S. A R. L., 81, rue François-Ier, Paris (VIIIe), qui nous ont aimablement fourni un échantillon de ce produit. Remarquons que l'on peut également envisager pour l'I. N. H. G. L., comme précédemment pour le produit de condensation de l'I. N. H. avec l'acide *D*-galacturonique, une structure d'hydrazine N, N'-disubstituée dans laquelle la forme pyranique de la glycuronolactone serait reliée au reste d'I. N. H. par une liaison osidique.

(**) Nous remercions les Laboratoires Roussel, 89, rue du Cherche-Midi, Paris (VIe), de nous avoir aimablement échantillonné en G 605, ou sulfoniazide (produit pur) ; ce produit est spécialisé en France sous le nom d' « Isorilone »,

d'intéressantes recherches thérapeutiques de Brouet et collaborateurs [18]. L'I. N. H. G. L. se dissout assez facilement dans l'eau à la température du laboratoire. Une solution aqueuse à 5 p. 100, mélangée à son volume d'une solution aqueuse d'acide sulfosalicylique à 10 p. 100, fournit, après trente minutes environ, un précipité que son aspect microscopique permet d'identifier au sulfosalicylate d'isoniazide : il ne se forme donc pas le sulfosalicylate d'*iso*nicotinylhydrazidone que l'on attendait, en raison de la faible stabilité de l'I. N. H. G. L. en solution aqueuse.

Le produit de condensation de l'isoniazide avec l'acide *m*-formylbenzène sulfonique (G 605) donne des sels alcalins hydrosolubles et neutres. Le sel de sodium de cette *iso*nicotinylhydrazidone (fig. 42) renferme quatre molécules d'eau

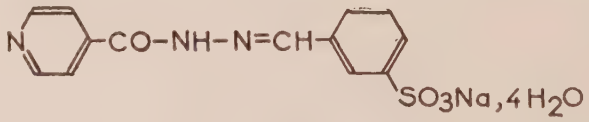

Fig. 42.

Sels de sodium de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide *m*-formylbenzène sulfonique (G 605).

de cristallisation et se dissout à raison de 4 p. 100 dans l'eau froide; son indice chimiothérapique particulièrement intéressant lui a valu d'être utilisé dans le traitement de la tuberculose humaine [23]. La solution aqueuse à 4 p. 100 de G 605, mélangée à son volume d'une solution aqueuse d'acide sulfosalicylique à 10 p. 100, fournit immédiatement un précipité blanc cristallisé en oursins, donc nettement différent de celui obtenu dans les mêmes conditions avec l'isoniazide. Le précipité est vraisemblablement constitué par le sulfosalicylate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide *m*-formylbenzène sulfonique.

J. — Action de l'acide dinitro-3,5-salicylique sur le G 605

L'addition à une solution aqueuse de G 605 d'une solution alcoolique d'acide dinitro-3,5-salicylique, volume à volume, entraîne l'apparition presque immédiate d'un précipité jaune. Un essai de recristallisation en milieu hydroalcoolique nous a montré que le précipité n'était pas homogène : on peut en séparer des cristaux jaunes (F = 348° C., déc.) et des cristaux blancs (F = 340° C., déc.), nettement différents de ceux du dinitro-3,5-salicylate d'isoniazide.

IV. — ACTION DES COMPOSÉS CARBONYLÉS SUR QUELQUES TUBERCULOSTATIQUES DÉRIVÉS DE L'ISONIAZIDE.

A. — *Iso*nicotinylhydrazidone de la glycuronolactone (I. N. H. G. L.)

L'addition à une solution aqueuse d'I. N. H.G. L. d'un égal volume de solution aqueuse d'alloxanne à 2 p. 100 fournit un précipité blanc cristallin dont l'aspect microscopique se montre identique à celui que donne dans les mêmes conditions l'isoniazide [135]. Le précipité ne se produit qu'avec des solutions d'I. N. H. G. L. de concentrations supérieures à 6,5 mg/cm^3 et, pour une teneur égale en azote pyridinique, apparaît toujours plus tardivement qu'avec l'I. N. H. Ceci confirme la faible stabilité en solution aqueuse de l'I. N. H. G. L., que nous avions déjà pressentie en étudiant l'action de l'acide sulfosalicylique (voir p. 74). L'I. N. H. G. L. s'hydrolyse même à froid, en libérant l'isoniazide; l'hydrolyse est d'ailleurs vraisemblablement accélérée par l'alloxanne qui insolubilise l'I. N. H. libéré et déplace ainsi constamment l'équilibre. Nous avons également obtenu, en ajoutant à la solution aqueuse d'I. N. H. G. L. des solutions

aqueuses saturées des aldéhydes anisique, vanillique, cinnamique, furfurylique et salicylique, des précipités identiques à ceux fournis dans les mêmes conditions par l'I. N. H. : leur apparition était seulement plus tardive.

D'ailleurs, l'*iso*nicotinylhydrazidone de la glycuronolactone fournit avec les azoïques à groupement aldéhydique libre des réactions voisines de celles de l'isoniazide (voir p. 58). Avec le G-orange, on ne note pas de modification en milieu neutre, mais en milieu chlorhydrique il se produit un précipité rouge immédiat; avec le rouge chromazone, l'addition d'HCl entraîne une coloration rouge violacée bientôt suivie d'un précipité de même teinte.

B. — Méthane sulfonate sodique de l'*iso*nicotinylhydrazide (I. N. H. M. S.)

L'étude de l'action de l'acide sulfosalicylique sur l'I. N. H. M. S. semblait démontrer une stabilité importante de ce tuberculostatique en milieu aqueux. L'action des composés carbonylés ne confirme pas cette conclusion antérieure. Lorsqu'on ajoute, en effet, à une solution aqueuse d'I. N. H. M. S. (à 4 p. 100) un égal volume d'une solution aqueuse saturée d'aldéhyde salicylique, anisique, vanillique, cinnamique ou furfurylique, ou un égal volume d'une solution aqueuse à 2 p. 100 d'alloxanne, on ne note aucun précipité immédiat; le lendemain, toutefois, est apparu un précipité dont l'aspect morphologique est celui de l'*iso*nicotinylhydrazidone correspondante.

C. — Sel de sodium de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide *m*-formylbenzène sulfonique (G 605)

La solution aqueuse de G 605, en présence des aldéhydes furfurylique et salicylique, ne donne formation à aucun précipité, même après quarante-huit heures d'observation et séjour ultérieur en glacière. La liaison — N = CH — de

cette hydrazidone semble donc assez stable vis-à-vis de ces deux composés carbonylés. En présence d'alloxanne, le G 605 donne rapidement un précipité dont l'aspect microscopique est très différent de celui obtenu avec l'I. N. H. : le fin chevelu observé correspond très probablement, non pas à l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'alloxanne, mais plutôt à l'acide dont dérive le G 605, acide très peu soluble dans l'eau : les solutions aqueuses d'alloxanne présentent en effet un *p*H assez bas (*p*H = 3,9).

CONCLUSIONS DU DEUXIÈME CHAPITRE

Au début de ce chapitre, nous avons rappelé l'action des hydrazines et des hydrazides sur les composés carbonylés, puis nous avons exposé nos recherches personnelles :

1° L'isoniazide, grâce à sa chaîne hydrazidique, réagit avec de nombreux composés carbonylés. Les hydrazidones obtenues avec les aldéhydes salicylique et cinnamique permettent une diagnose microcristalloscopique aisée de l'*iso*nicotinylhydrazide, en raison de l'aspect caractéristique des cristaux et de la sensibilité de la réaction, qui permettent la caractérisation de 15 γ du tuberculostatique. Nous décrivons quatre nouveaux dérivés de l'I. N. H. : les monohydrates des *iso*nicotinylhydrazidones de l'aldéhyde anisique et de l'aldéhyde protocatéchique, le monohydrate de la *N*-*iso*nicotinyl-*N'*-(1-*D*-galacturonyl)-hydrazine ainsi que l'*iso*nicotinylhydrazidone de la benzylidène acétone.

2° L'isoniazide donne des réactions colorées avec le diacétyle en milieu basique, l'acétylacétone en milieu neutre et avec des colorants azoïques à groupement aldéhydique libre (G-orange et rouge chromazone).

3° Nous décrivons plus de cinquante nouveaux sels organiques d'*iso*nicotinylhydrazidones, obtenus en traitant

l'hydrazide *iso*nicotinique par un acide en présence d'un composé carbonylé. Nous nous sommes surtout attaché aux sels des acides benzène sulfonique, *p*-toluène sulfonique, *o*-toluène sulfonique, *m*-nitrobenzène sulfonique, trichloracétique et maléique. Le pouvoir tuberculostatique de plusieurs sels de ce type a été également examiné, et l'intérêt de ces substances discuté au point de vue du traitement de la tuberculose.

4° L'action de certains composés carbonylés sur deux tuberculostatiques voisins de l'isoniazide, l'*iso*nicotinylhydrazidone de la glycuronolactone et le méthane sulfonate sodique de l'I. N. H. démontre la libération progressive d'isoniazide à partir de ces deux composés. Le sel de sodium de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide *m*-formylbenzène sulfonique paraît plus résistant à l'hydrolyse.

CHAPITRE III

ACTION DES SELS MÉTALLIQUES SUR QUELQUES COMPOSÉS PYRIDINIQUES D'INTÉRÊT BIOLOGIQUE

Les bases pyridiniques fournissent avec les sels métalliques, et tout spécialement avec les sels de métaux lourds, des combinaisons complexes (*). Une solution aqueuse de sulfate de cuivre fournit par exemple, avec la pyridine, un précipité bleu clair qui se dissout dans un excès de réactif en donnant une solution bleu foncé. La formation de complexes explique également la solubilité dans la pyridine des chlorures de calcium, de cuivre, de zinc et de mercure, ainsi que des nitrates d'argent et de plomb.

Nous avons étudié, dans ce chapitre :

— Les complexes métalliques de l'*iso*nicotinylhydrazide;

— Les complexes métalliques de l'amide nicotinique;

— Nous apportons, enfin, quelques données sur les complexes métalliques de la pyridoxine.

(*) Au sujet des complexes métalliques des composés pyridiniques, consulter [162, 128, 186 bis].

I. — COMPLEXES MÉTALLIQUES DE L'*ISO*NICOTINYLHYDRAZIDE (*)

Nous avons été d'autant plus tenté d'étudier les complexes métalliques de l'isoniazide que cette molécule possède à ses deux extrémités des groupements susceptibles de fournir des complexes chelatés avec les sels minéraux : en effet, outre l'azote pyridinique de l'hétérocycle [186], la chaîne hydrazidique possède une forte affinité pour les sels métalliques, comme d'ailleurs l'hydrazine elle-même [8].

Bien que l'action des ions cuivriques sur la benzoylhydrazide soit connue depuis 1929 [1], les complexes métalliques des hydrazides n'ont pratiquement attiré l'attention des chercheurs qu'à la suite de la découverte des propriétés tuberculostatiques de l'hydrazide *iso*nicotinique (I. N. H.). Sorkin, Roth et Erlenmeyer [185] montraient en effet, en 1952, que l'I. N. H., en solution aqueuse, forme avec le sulfate de cuivre un complexe peu soluble et bien cristallisé de formule : $C_6H_7ON_3$, SO_4Cu, 2 H_2O; un second complexe (fig. 43) existe en solution [63], complexe dont la constante de stabilité a pu être démontrée par la méthode spectrophotométrique [64]. La formation de complexes n'est pas limitée au cuivre, et Albert [2] indique les constantes des complexes obtenus non seulement avec le cuivre, mais aussi avec le nickel, le zinc et le cobalt.

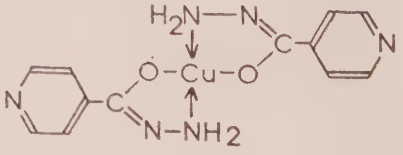

Fig. 43.

Complexe cuprique de l'isoniazide.

(*) Une communication préliminaire a été présentée à la séance du 25 novembre 1953 de la Société de Pharmacie de Bordeaux [140].

L'affinité de l'hydrazide *iso*nicotinique n'a pas cependant que cet intérêt théorique : les ions métalliques semblent, en effet, modifier notablement les propriétés biologiques du tuberculostatique. L'ion cuivre décuple l'activité de l'isoniazide sur le *Mycobacterium* cultivé en milieu de Kirchner [185], tandis qu'en opérant dans des conditions différentes, Colizzi et Garattini [41] observent que l'I. N. H., à la concentration de 2 γ/cm^3, se montre capable d'inhiber complètement la croissance de bacilles paratuberculeux et devient inactif en présence de traces (0,001 γ) de chlorure cuivreux ou cuivrique; les sels de mercure et de manganèse présentent une action similaire; ces deux auteurs ont attiré l'attention des chercheurs sur l'inactivation par l'I. N. H. des propriétés pharmacodynamiques de plusieurs métaux lourds. Le rôle des complexes métalliques de l'isoniazide dans le mécanisme d'action de ce tuberculostatique trouve une confirmation dans le fait que le dérivé N_2-méthylé, Py — CO — $N(CH_3)$ — NH_2, incapable de fournir par ionisation un groupement acide (voir p. 15) et de s'unir aux ions métalliques, se montre dépourvu de toute activité sur le B. K [46 bis].

La possibilité de former des complexes métalliques semble d'ailleurs très largement répandue dans le groupe des tuberculostatiques de synthèse [24, 20, 14, 163] et se retrouve pour de nombreux antiseptiques [4, 28, 68]. D'autre part, l'I. N. H. augmente le pouvoir catalytique du cuivre vis-à-vis de l'oxydation de l'acide ascorbique [184] et de l'acide *p*-aminosalicylique, de la dopa [87]. L'isoniazide, enfin, inhibe de nombreux enzymes à coenzyme métallique dissociable : polyphénol-oxydase [155], monoamino-oxydase [199, 190] (*), diamino-oxydase [200, 175]; mais, tandis que le blocage qu'exerce l'hydrazide tuberculostatique sur la polyphénol-oxydase peut être levé par

(*) La toxicité de la phényléthylamine et de la tyramine est augmentée par l'I. N. H., très vraisemblablement par l'intermédiaire du blocage de l'amino-oxydase [157].

l'ion cuivrique [156], on observe, au contraire, que l'inhibition de l'oxydation enzymatique de la cadavérine par l'I. N. H. n'est rompue que par l'ion manganèse, le cuivre et le cobalt se montrant complètement inactifs [175].

Outre les travaux cités ci-dessus, plusieurs réactions de l'isoniazide avec les sels métalliques ont été déjà décrites : les unes mettent en œuvre les propriétés réductrices de l'I. N. H. vis-à-vis de la liqueur de Fehling [164, 193, 62, 7], du nitrate d'argent [62, 193, 59, 5, 7, 176], du ferricyanure de potassium [108, 164, 131, 7], des permanganates [59, 192, 164, 50], des bichromates [59, 192, 130, 131], des iodates [5, 164, 56], des hypobromites [100, 164], des nitrites [6, 176] ou des sels de cérium [6, 192], d'autres ont trait à l'obtention de précipités [59, 192, 5, 7, 164, 50].

Nous avons réalisé une étude systématique de l'action de l'hydrazide *iso*nicotinique sur plusieurs sels métalliques, au cours de laquelle nous nous sommes spécialement attaché à l'obtention de complexes métalliques insolubles en évitant, dans la mesure du possible, l'interférence des propriétés réductrices de l'isoniazide vis-à-vis du cation ou de l'anion; nous décrivons de nombreux complexes métalliques de l'I. N. H. non encore mentionnés dans la littérature; pour les dérivés déjà connus, nous avons apporté des précisions en ce qui concerne la sensibilité de la réaction; nous signalons, enfin, les réactions que fournissent avec les sels métalliques trois dérivés de l'isoniazide actuellement utilisés en clinique, l'*iso*nicotinylhydrazidone de la glycuronolactone, le méthane sulfonate sodique de l'I. N. H. et le sel de sodium de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide *m*-formylbenzène sulfonique.

A. — Action des sels de cuivre

Action du sulfate de cuivre.

Le mélange des solutions aqueuses de sulfate de cuivre et d'isoniazide entraîne l'apparition d'un précipité cristal-

lin, décrit pour la première fois par Sorkin et coll. [185], puis signalé ou étudié par de nombreux auteurs [20, 63, 64, 7, 50, 2, 192, 193, 59]. Le précipité est formé de fines aiguilles colorées en bleu-vert et agglomérées en petites houppes (fig. 44, a). Le complexe s'insolubilise dans une

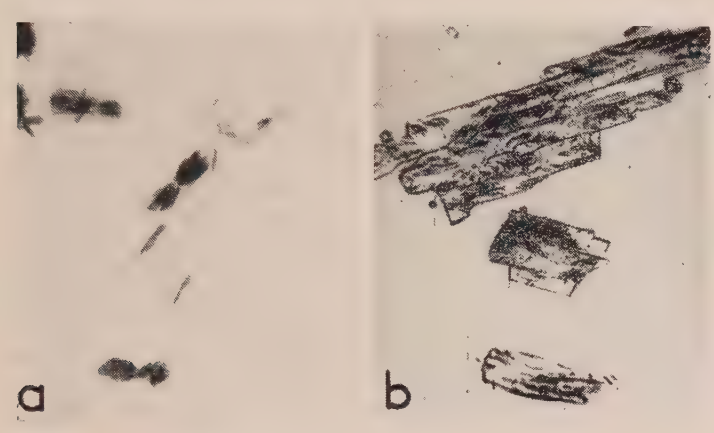

Fig. 44.

Aspect microscopique des complexes métalliques de l'I. N. H.

a, I. N. H.-sulfate de cuivre,
b, I. N. H.-iodure de cadmium.

large gamme de concentrations relatives en I. N. H. et en sulfate de cuivre; nous avons groupé nos résultats dans le tableau III. On notera que le précipité apparaît plus rapidement lorsque les deux réactifs se trouvent au voisinage des proportions stœchiométriques. En raison de la sensibilité de la réaction, l'action du sulfate de cuivre peut donc servir à la caractérisation rapide de l'isoniazide; ce sel métallique a d'ailleurs déjà été utilisé comme réactif analytique, pour les sulfamides notamment [53].

Nous avons signalé au début de ce chapitre la formule globale du complexe cuprique insoluble, dans lequel une molécule d'I. N. H. est associée à une molécule de sulfate de cuivre (complexe 1 : 1, tandis que le dérivé représenté sur la figure 43 est le complexe 2 : 1). Albert [2] attribue

TABLEAU III

Aspect des solutions aqueuses de sulfate de cuivre et d'isoniazide.

Concentration en I. N. H.	Concentration en sulfate de cuivre								
	M/2	M/4	M/8	M/16	M/32	M/64	M/128	M/256	M/512
M/4....	↓ imm.	↓ imm.	↓ imm.	↓ imm.	↓ 15' R	↓ 20' R	C R	C R	C R
M/8....	↓ imm.	↓ imm.	↓ imm.	↓ imm.	↓ 3'	↓ 15' R	↓ 30' R	C R	C R
M/16...	↓ imm.	↓ imm.	↓ imm.	↓ imm.	↓ 1'	↓ 2'	↓ 30' R	C R	C R
M/32...	↓ imm.	↓ 1'	↓ 1'	↓ 1'	↓ 1'	↓ 1'	↓ 15'	C R	C R
M/64...	↓ 10'	↓ 10'	↓ 2'	↓ 1'	↓ 1'	↓ 1'	↓ 2'	C R	C R
M/128..	↓ 12 h.	↓ 30'	↓ 10'	↓ 3'	↓ 1'	↓ 2'	↓ 3'	↓ 15'	C R
M/256..	0	↓ 16 h.	↓ 3 h.	↓ 3 h.	↓ 15 h.	↓ 15 h.	↓ 30'	↓ 24 h.	0
M/512..	0	0	↓ 3 h.	↓ 3 h.	↓ 15 h.	↓ 15 h.	↓ 24 h.	0	0
M/1024.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

↓ imm. : précipité immédiat; C : coloration vert bleu immédiate;
↓ 10' : précipité après dix minutes; R : réduction tardive;
0 : pas de modifications.

au complexe 1 : 1 une structure qui ne tient pas compte de la réactivité du noyau pyridinique sur les sels métalli-

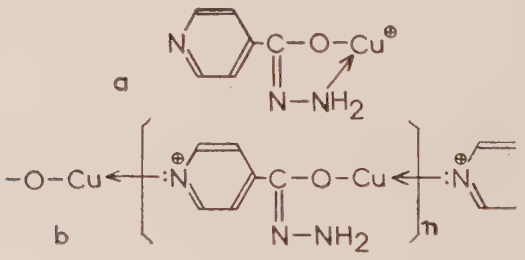

Fig. 45.

Structure du complexe cuprique 1 : 1 de l'I. N. H.
a, selon Albert; *b*, voir texte.

ques (fig. 45, a). Il nous semble que la précipitation du complexe peut être attribuée à la formation d'une véri-

table macromolécule, si l'on admet que l'atome d'azote hétérocyclique puisse céder sa paire d'électrons non partagée à l'atome de cuivre (fig. 45, b).

La formation d'un précipité cristallin avec le sulfate de cuivre différencie donc nettement les hydrazides des hydrazines aromatiques : en présence de sulfate de cuivre, la phénylhydrazine se décompose en effet facilement avec libération quantitative d'azote. Pour les concentrations les plus faibles en sulfate de cuivre cependant, l'I. N. H. ne fournit qu'une simple coloration, tandis que l'apparition tardive d'un précipité brun traduit vraisemblablement la réduction du sel de cuivre par le tuberculostatique; on observe d'ailleurs, lorsque la concentration en isoniazide est suffisante et largement supérieure à celle du sel métallique (I. N. H., M/4; SO_4Cu, M/32-M/128) un léger dégagement gazeux.

Action d'autres sels de cuivre.

Le chlorure cuivrique, en solution aqueuse 4 M/3, mélangé volume à volume avec une solution aqueuse d'I. N. H. 2 M/3, forme un précipité gris-verdâtre hétérogène tandis qu'un abondant dégagement gazeux traduit la destruction de la chaîne hydrazidique. Dans des conditions identiques, le nitrate cuivrique fournit une intense coloration verte et, après une heure environ, un précipité bleu cristallin; ce dernier précipité n'apparaît qu'après vingt-quatre heures si les réactifs sont dilués de moitié; une dilution plus grande (I. N. H., M/6; $(NO_3)_2Cu$, M/3) conduit toujours à une belle coloration verte mais ne donne après vingt-quatre heures qu'un léger précipité brun-verdâtre. Le mélange des solutions de nitrate ou de chlorure cuivrique avec celle d'I. N. H. s'accompagne d'une baisse

de *p*H (tableau IV), en raison de l'ionisation de la chaîne hydrazidique :

$$\mathrm{Py-CO-NH-NH_2} \leftrightarrows \mathrm{Py-\overset{\overset{OH}{|}}{C}=N-NH_2} \leftrightarrows \mathrm{Py-\overset{\overset{O^-}{|}}{C}=N-NH_2} + H^+$$

TABLEAU IV

ACTION DES CHLORURE ET NITRATE CUIVRIQUES SUR LE *p*H DES SOLUTIONS AQUEUSES D'ISONIAZIDE

COMPOSITION DE LA SOLUTION	*p*H
I. N. H., M/40	6,35
$(NO_3)_2Cu$, M/80	4,66
I. N. H., M/40; $(NO_3)_2Cu$, M/80	4,14
Cl_2Cu, M/80	4,57
I. N. H., M/40; Cl_2Cu, M/80	4,16

Les acétate (*), monochloroacétate et formiate de cuivre donnent également des précipités cristallins de couleur bleue avec l'isoniazide; le trichloracétate réagit en donnant un précipité amorphe.

B. — ACTION DES SELS DE COBALT

Action du sulfate de cobalt.

Le sulfate de cobalt fournit avec les solutions aqueuses d'I. N. H. une coloration rouge carminée et, après quelques heures de contact, un précipité rose-mauve (I) que nous avons recueilli, lavé à l'eau glacée et séché à 37° C. L'analyse élémentaire nous montre qu'il s'agit d'un complexe

(*) Egalement signalé par DELTOMBE [50].

possédant une structure voisine de celle du complexe cuivrique :

Analyse :

I, $C_6H_7ON_3$, SO_4Co, 3 H_2O (P M = 346).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	20,80	3,75	12,13
Trouvé	20,62	3,74	12,16
—	21,00	4,01	12,15

Le précipité est constitué de très petites aiguilles, agglomérées en amas pour les fortes concentrations en réactifs (fig. 46, a).

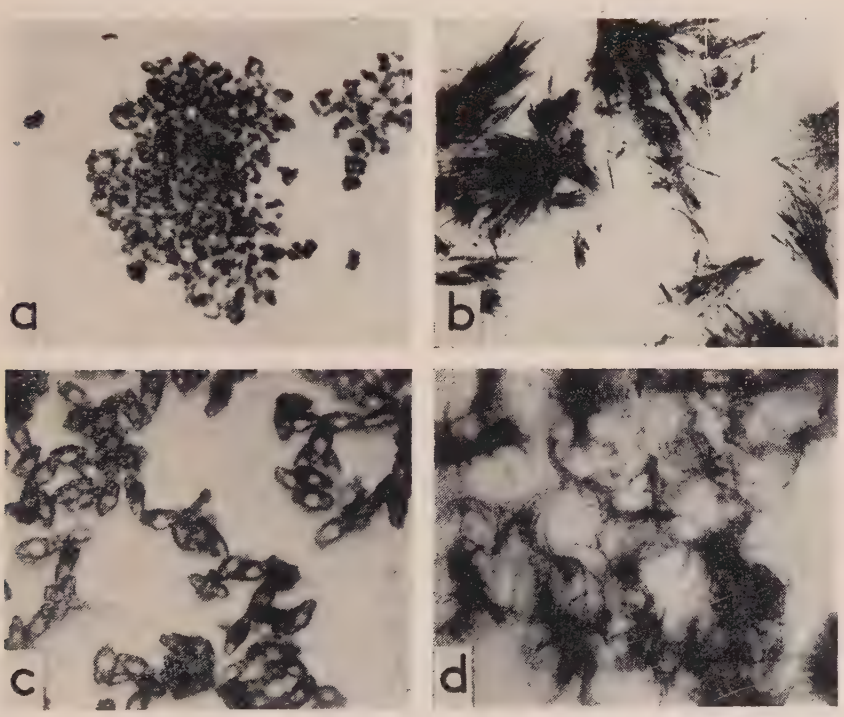

Fig. 46.

Aspect microscopique de dérivés métalliques de l'I. N. H. et du G 605.

a, complexe I. N. H.-sulfate de cobalt,
b, complexe I. N. H.-sulfate de cadmium,
c, sel de cobalt du G 605,
d, sel de cadmium du G 605.

Le complexe apparaît nettement plus soluble que son homologue obtenu avec le sulfate de cuivre et précipite plus tardivement (tableau V). Avec des solutions cobaltiques diluées, on observe simplement le renforcement de la teinte rosée initiale.

TABLEAU V

ASPECT DES SOLUTIONS AQUEUSES DE SULFATE DE COBALT ET D'ISONIAZIDE.

Concentration en I. N. H.	Concentration en sulfate de cobalt M/2	M/4	M/8	M/16	M/32	M/64
M/4....	↓ 3 h.	↓ 3 h.	↓ 3 h.	↓ 15 h.	C	C
M/8....	↓ 3 h.	↓ 3 h.	↓ 3 h.	↓ 15 h.	↓ 15 h.	C
M/16....	↓ 3 h.	↓ 3 h.	↓ 3 h.	↓ 15 h.	↓ 15 h.	C
M/32...	↓ 24 h.	↓ 3 h.	↓ 3 h.	↓ 15 h.	↓ 15 h.	0
M/64...	↓ 24 h.	↓ 24 h.	↓ 24 h.	↓ 15 h.	.....	.....
M/128..	0	0	0	0	.....	.....

↓ 3 h. : précipité après trois heures;
C : coloration;
0 : pas de modifications.

Action d'autres sels de cobalt.

Les solutions de chlorure et de nitrate de cobalt (*) en présence d'I. N. H., ne donnent lieu qu'à une exacerbation de leur coloration rose qui vire à l'orangé; aucun précipité n'apparaît, même avec des solutions concentrées et après chauffage; il en est de même des bisulfite (**) hypophosphite et formiate de cobalt (ou plus exactement d'une solution de nitrate cobaltique additionnée de bisulfite, d'hypophosphite ou de formiate de sodium) : le sulfocyanate de sodium (obtenu de la même manière) donne en solution

(*) DELTOMBE [50] ne note aucune réaction avec ce dernier sel.
(**) De nombreuses combinaisons de sulfites métalliques et d'amines aromatiques ont été décrites par DENIGÈS [51].

concentrée un léger précipité cristallin, déjà antérieurement signalé [50].

L'acétate de cobalt, chauffé avec une solution d'I. N. H., donne un précipité violet qui se redissout par refroidissement, mais le même phénomène se produit en l'absence du tuberculostatique; le trichloracétate fournit un précipité non cristallin.

C. — Action des sels de nickel

Action du sulfate de nickel.

Lorsqu'on verse une solution aqueuse d'isoniazide à 10 p. 100 dans un volume double d'une solution M de sulfate de nickel, on constate que la solution du tuberculostatique, dès qu'elle entre en contact avec le sel métallique, forme une masse très collante de couleur bleue qui se dissout progressivement en donnant une solution bleu-vert, dont la teinte tranche sur la solution verte de SO_4Ni. Le chauffage du mélange au bain-marie fait apparaître, après refroidissement, des cristaux bleus (II) que nous avons recueillis, lavés et séchés en vue de leur analyse; il s'agit d'un complexe analogue au complexe cobaltique de l'I. N. H.

Analyse :

II, $C_6H_7ON_3$, SO_4Ni, 3 H_2O (P M = 346).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	20,80	3,75	12,13
Trouvé	20,91	3,53	11,85
—	21,09	3,66	12,23

L'apparition de cristaux dans les mélanges, même après chauffage, ne se produit que si les concentrations sont au moins égales à M/128 pour le sulfate de nickel et M/16 pour l'isoniazide.

Action d'autres sels de nickel.

Le trichloracétate et le sulfocyanate de nickel forment avec l'I. N. H. des précipités bleus cristallins, mais avec les autres sels de nickel (chlorure, bromure, iodure, nitrate, bisulfite, hypophosphite et hyposulfite), nous n'avons observé que des changements de coloration : les solutions aqueuses de ces différents sels, nettement vertes, bleuissent en présence d'isoniazide; le chauffage au bain-marie fait verdir à nouveau le mélange qui reprend sa teinte bleue par refroidissement.

D. — Action des sels de zinc

Action du sulfate de zinc.

Le sulfate de zinc fournit très facilement, avec l'isoniazide, un précipité blanc cristallin peu soluble; le précipité (III), recueilli et lavé, se transforme, au cours du séchage, en un véritable ciment; la difficulté de séchage de cette masse est vraisemblablement responsable des résultats peu concordants de l'analyse élémentaire. Le produit analysé semble cependant homogène; il correspond très probablement à la formule III b et possède donc la même structure que les produits I et II.

Analyse :

III a, $C_6H_7ON_3$, SO_4Zn, 2 H_2O (P M = 334);
III b, $C_6H_7ON_3$, SO_4Zn, 3 H_2O (P M = 352);
III c, $C_6H_7ON_3$, SO_4Zn, 4 H_2O (P M = 370).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé : III a.....	21,55	3,29	12,57
— III b.....	20,45	3,69	11,93
— III c.....	19,45	4,05	11,35
Trouvé	21,33	4,13	11,93
—	21,25	4,09	11,85

Le tableau VI indique les conditions de formation du complexe SO_4Zn — I. N. H.

TABLEAU VI

ASPECT DES SOLUTIONS AQUEUSES DE SULFATE DE ZINC ET D'ISONIAZIDE.

		CONCENTRATION EN SULFATE DE ZINC						
		M/2	M/4	M/8	M/16	M/32	M/64	M/128
CONCENTRATION EN I. N. H.	M/4....	↓ 1'	↓ 1'	↓ 15'	↓ T	↓ T	↓ T	0
	M/8....	↓ 2'	↓ 2'	↓ 10'	↓ T	↓ T	↓ T	↓ 24 h.
	M/16...	↓ 3'	↓ 5'	↓ 10'	↓ T	↓ T	↓ T	↓ 24 h.
	M/32...	↓ 10'	↓ 15'	↓ 15'	↓ T	↓ T	↓ T	.....
	M/64...	↓ 45'	↓ 1 h.	↓ 90'	↓ T	↓ T	↓ T	.....
	M/128..	↓ T	↓ T	↓ T	↓ T	↓ T	↓ T	.....

↓ 1' : précipité après une minute;
↓ T : précipité observé tardivement (temps d'apparition réel non noté);
0 : pas de modifications.

Action d'autres sels de zinc.

DELTOMBE [50] avait déjà remarqué que le chlorure de zinc ne fournit aucun précipité avec l'I. N. H.; il en est de même de l'iodure, du nitrate, du formiate et de l'acétate : des complexes hydrosolubles doivent cependant se former, car nous avons constaté que l'hydrolyse aqueuse de nombreux sels de zinc est inhibée par l'isoniazide; tandis que les tubes témoins se troublent rapidement à la suite de l'insolubilisation de $Zn(OH)_2$, les mélanges contenant le tuberculostatique restent clairs.

Le bisulfite, le monochloracétate et le trichloracétate agissent comme le sulfate de zinc, en donnant des composés blancs peu solubles et bien cristallisés, tandis que le sulfocyanate ne fournit qu'un léger précipité floconneux; ce dernier résultat confirme donc celui de DELTOMBE [50], dont la validité pouvait être suspectée, puisque le mélange

employé par cet auteur était constitué de sulfocyanate d'ammonium et de sulfate de zinc, sel dont nous venons de montrer la réactivité sur l'I. N. H.

E. — Action des sels de manganèse

Action du sulfate de manganèse.

Le sulfate de manganèse en solution concentrée réagit très rapidement avec l'isoniazide pour former un complexe cristallin (IV) que le microscope montre constitué de très fines aiguilles. Le produit IV correspond, ici encore, à une combinaison hydratée d'une molécule d'I. N. H. avec une molécule du sel métallique.

Analyse :

IV, $C_6H_7ON_3$, SO_4Mn, 3 H_2O (P M = 342).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	21,05	3,80	12,28
Trouvé	20,97	3,90	12,68
—	21,24	3,79	12,71

Ce complexe est beaucoup plus hydrosoluble que les précédents et les solutions d'I. N. H. M/8 ne précipitent qu'après une dizaine d'heures.

Action d'autres sels de manganèse.

Aucun complexe insoluble n'a pu être obtenu par action des chlorure, bromure, nitrate, acétate et lactate de manganèse; les formiate, hyposulfite, hypophosphite et sulfocyanate nous ont fourni des précipités peu abondants.

F. — Action des sels de cadmium

Action du sulfate de cadmium.

Le tableau VII nous montre que l'isoniazide, même en solution diluée, donne facilement un complexe insoluble

avec le sulfate de cadmium : le précipité est constitué d'aiguilles blanches réunies en oursins ou en branches (fig. 46, b). Nos résultats infirment donc sur ce point les constatations de Deltombe [50].

TABLEAU VII

Aspect des solutions aqueuses de sulfate de cadmium et d'isoniazide.

Concentration en I. N. H.	Concentration en sulfate de cadmium						
	M/2	M/4	M/8	M/16	M/32	M/64	M/128
M/4....	↓ imm.	↓ imm.	↓ imm.	↓ imm.	↓ 5'	↓ T	↓ T
M/8....	↓ 1'	↓ imm.	↓ imm.	↓ imm.	↓ 5'	↓ T	↓ T
M/16...	↓ 3'	↓ 1'	↓ 2'	↓ 2'	↓ 3'	↓ T	↓ T
M/32...	↓ 5'	↓ 2'	↓ T	↓ 8'	↓ 10'	↓ T	↓ T
M/64...	↓ 10'	↓ T	↓ T	↓ 15'	↓ 15'	↓ T	0
M/128..	↓ T	↓ T	↓ T	↓ T	↓ T	0	0
M/256..	↓ T	↓ T	↓ T	↓ T	↓ T	0	0
M/512..	↓ T	↓ T	↓ T	0	0	0	0

↓ imm. : précipité immédiat;
↓ 10' : précipité après dix minutes;
↓ T : précipité apparu tardivement (temps d'apparition réel non noté);
0 : pas de modifications.

La constitution du précipité cristallin (V) s'avère analogue à celle des complexes précédents.

Analyse :

V, $C_6H_7ON_3$, So_4Cd, 3 H_2O (P M = 399) :

	% C	% H	% N
Calculé	18,04	3,25	10,52
Trouvé	18,24	3,25	10,74
—	18,46	3,21	10,75

Action d'autres sels de cadmium (*).

Les halogénures de cadmium (chlorure, bromure, iodure) donnent des précipités blancs que le microscope montre constitués de beaux cristaux; l'iodure de cadmium, souvent utilisé en analyse [58] sous le nom de réactif de Marmé, apparaît particulièrement intéressant, car l'aspect caractéristique des plaques cristallines obtenues permet la diagnose microcristalloscopique de l'I. N. H. (fig. 44, b).

Les sulfite, trichloracétate, hyposulfite, sulfocyanure et borotungstate de cadmium conduisent également à l'obtention de précipités blancs; le nitrate, le formiate, l'acétate et le lactate ne nous ont donné, au contraire, que des résultats négatifs.

G. — Action de divers sels métalliques

Les sulfates de magnésium, d'aluminium, de chrome et de béryllium, les chlorures de calcium, de strontium, de chrome et de thorium, l'acétate de plomb [50] ne donnent aucun précipité avec des solutions aqueuses d'isoniazide; un précipité blanc apparaît rapidement avec le bromure de plomb et le sulfate de thorium. Une mention particulière doit être faite pour les sels de mercure et les sels d'uranyle.

Action des sels de mercure.

Le chlorure mercurique donne un complexe blanc bien cristallisé avec l'I. N. H. [50, 193, 176, 119, 5]; nous avons constaté qu'en mettant en œuvre des solutions concentrées des deux réactifs, le précipité blanc noircit progressivement à la suite de la réduction du sel mercurique; le

(*) On trouve dans la littérature mention de l'inefficacité de l'acétate de cadmium et du pouvoir précipitant des iodure et sulfocyanate [50]. Pour ce dernier sel, toutefois, le mode de préparation à partir du sulfate de cadmium et d'ions sulfocyanates utilisé par Deltombe *(loc. cit.)* est peu recommandable en raison de l'interférence possible avec l'action propre de SO_4Cd sur l'isoniazide.

bromure mercurique fournit avec facilité des oursins blancs; le nitrate et l'acétate [50] semblent réagir d'une manière plus complexe et décomposent partiellement l'isoniazide (léger dégagement gazeux au cours de la réaction); le cyanure de mercure est sans action, tandis que l'oxycyanure est réduit [50].

Action des sels d'uranyle.

Duval et collaborateurs [59] ne signalent aucune réaction avec l'acétate d'uranyle. Nous avons noté que, si le nitrate d'uranyle ne fournit pas de précipité avec les solutions d'I. N. H., la teinte jaune de la solution aqueuse du sel métallique augmente en présence du tuberculostatique, tandis que la fluorescence est fortement inhibée (tableau VIII).

TABLEAU VIII

Fluorescence des solutions aqueuses de nitrate d'uranyle et d'isoniazide.

		Concentration en nitrate d'uranyle				
		M/20	M/40	M/80	M/160	M/320
Concentration en I. N. H.	0	FFFF	FFFF	FFF	FFF	0
	M/640	FF	F	0	0	0
	M/320	F	F/2	0	0	0
	M/160	0	0	0	0	0

La fluorescence est examinée en lumière de Wood; son intensité est appréciée à l'œil et indiquée par un nombre correspondant de lettres F.

Action des sels métalliques sur trois dérivés de l'isoniazide

Il nous a semblé utile d'examiner le comportement, en présence de divers sels métalliques, des trois nouveaux

tuberculostatiques, dérivés de l'I. N. H., que nous avons déjà expérimentés.

Action du sulfate de cuivre sur l'isonicotinylhydrazidone de la glycuronolactone (I. N. H. G. L.).

L'addition d'une solution aqueuse de sulfate de cuivre à une solution aqueuse d'I. N. H. G. L. s'accompagne, comme pour l'I. N. H., d'une baisse de *p*H; l'apparition d'une coloration verte confirme la formation d'un complexe métallique qui s'insolubilise sous la forme d'un précipité vert lorsque la concentration en SO_4Cu et en I. N. H. G. L. est suffisante (tableau IX) (*).

TABLEAU IX

ASPECT DES SOLUTIONS AQUEUSES DE SULFATE DE CUIVRE ET D'*iso*NICOTINYLHYDRAZIDONE DE LA GLYCURONOLACTONE.

Concentration en I. N. H. G. L.	Concentration en sulfate de cuivre						
	M/2	M/4	M/8	M/16	M/32	M/64	M/128
M/32.	↓ 45'	↓ 30'	↓ 30'	↓ 10'	↓ 10'	↓ 6 h. △	△ △
M/64.	↓ 15 h.	↓ 60'	↓ 15 h.	↓ 30'	↓ 30'	↓ 6 h. △	△ △
M/128	C	↓ 15 h.	C	↓ 15 h.	↓ 15 h.	↓ 6 h. △	△ △
M/256	C	C	C	C	C	C	C
M/512	0	C	C	C	C	0	0

↓ 45' : précipité après quarante-cinq minutes;
C : coloration verte;
0 : pas de modifications;
△ : précipité cristallisé contenant également des particules jaunes non cristallisées;
△ △ : précipité jaune non cristallisé.

La coloration verte du précipité diffère nettement de la teinte bleue du produit obtenu en traitant une solution

(*) Pour les faibles concentrations en sulfate de cuivre, un précipité jaune non cristallin se superpose ou remplace les aiguilles vertes.

aqueuse d'I. N. H. par le sulfate de cuivre; cependant, l'aspect microcristalloscopique des deux précipités est identique, et l'analyse élémentaire nous a confirmé qu'il s'agissait du même composé et non d'un éventuel complexe cuprique de l'I. N. H. G. L. dont la teneur en azote serait notablement plus faible.

Analyse :

$C_6H_{11}O_7N_3SCu$ (P M = 332,7).

(1) produit obtenu avec l'I.N.H.; (2) produit obtenu avec l'I.N.H.G.L.

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	21,65	3,33	12,63
(1) Trouvé	21,89	2,85	12,37
—	21,75	2,91	12,36
(2) Trouvé	22,43	3,32	12,51
—	22,19	3,27	12,40

Ces résultats ne montrent pas une concordance parfaite pour le produit (2), mais l'analyse a été pratiquée sur un produit simplement lavé et non recristallisé, en raison de son insolubilité, presque complète dans les solvants habituels et de sa décomposition probable par la pyridine. C'est donc à la suite de l'hydrolyse de l'I. N. H. G. L. que le complexe métallique prend naissance; cette hydrolyse est lente, car le précipité apparaît toujours plus tardivement avec l'I. N. H. G. L. qu'avec la quantité équivalente d'I. N. H.; elle n'est pas non plus totale, comme le prouve l'expérience suivante.

Expérience. — On ajoute à 1 g de sulfate de cuivre cristallisé, dissous dans 10 cm^3 d'eau, 200 mg d'I. N. H. dissous dans 20 cm^3 d'eau; après lavage et séchage, on obtient un précipité de 423 mg (86 p. 100 de la valeur théorique); la même expérience, effectuée en remplaçant l'I. N. H. par la quantité équivalente d'I. N. H. G. L. (430 mg), ne fournit qu'un précipité de 365 mg (75 p. 100 de la valeur théorique). Nous avons vérifié que, dans les conditions de

l'expérience, la glycuronolactone ne donnait aucun précipité avec le cuivre.

Action des sels métalliques sur le méthane sulfonate sodique de l'I. N. H. (I. N. H. M. S.).

L'action des sels métalliques nous a permis de confirmer la stabilité de l'I. N. H. M. S. Nous avons étudié le comportement de ce tuberculostatique aux concentrations M/20, M/40 et M/80, en présence des sulfates de cuivre, de cobalt, de nickel, de manganèse, de zinc et de cadmium aux concentrations M/4, M/8 et M/16, soit neuf essais pour chaquel sel. Le sulfate de cuivre a donné lieu à la formation d'une coloration verte suivie d'un précipité dans les mélanges :

I. N. H. M. S., M/20; SO_4Cu, M/8;
I. N. H. M. S., M/20; SO_4Cu, M/16;
I. N. H. M. S., M/40; SO_4Cu, M/16.

Le précipité, examiné au microscope, ne présente pas un aspect cristallin bien net et se montre très différent du complexe I. N. H. — SO_4Cu; il s'agit donc très probablement du sel de cuivre du méthane sulfonate de l'I. N. H.

Le sulfate de cobalt ne subit qu'un changement de coloration du rose à l'orangé, tandis que, dans des conditions analogues ce sel forme avec l'I. N. H. un abondant précipité (voir plus haut). La solution de sulfate de nickel bleuit en présence de l'I. N. H. M. S., tandis que celles des sulfates de zinc, de manganèse et de cadmium restent parfaitement limpides.

*Action des sels métalliques sur l'*isonicotinylhydrazidone *de l'acide* m-*formylbenzène sulfonique (G 605).*

Nous avons étudié, dans des conditions de concentrations identiques à celles utilisées plus haut pour l'I. N. H. M. S., l'action sur le G 605 des mêmes sulfates (Cu, Co, Ni, Zn, Mn, Cd) ; dans la totalité des cinquante-quatre essais réali-

sés, nous avons obtenu un précipité, le plus souvent immédiatement après la réalisation du mélange ou après quelques minutes, après quelques heures seulement pour la concentration la plus faible en G 605 (M/80) avec SO_4Ni, SO_4Zn, SO_4Mn.

Ces précipités sont-ils constitués par des sels métalliques du G 605, formés grâce à la présence dans la molécule de ce tuberculostatique d'un groupement acide sulfonique, ou bien, comme pour l'I. N. H. G. L., proviennent-ils simplement de l'insolubilisation sous forme d'un complexe chelaté de l'I. N. H. libéré par hydrolyse ? Nos résultats sont en faveur de la première hypothèse. Les sulfates de Cu, Zn et Cd réagissent également avec l'I. N. H., mais les précipités montrent un aspect microscopique totalement différent de ceux obtenus dans les mêmes conditions avec le G 605; bien plus, le G 605 précipite en présence d'acétate de zinc, des chlorures de cobalt et de nickel, du nitrate de nickel, sels dépourvus d'action sur l'isoniazide. Dans le mélange G 605-SO_4Co, le précipité apparaît presque instantanément, alors qu'avec une concentration équivalente en I. N. H., la même quantité de sulfate de cobalt ne fournit qu'un précipité tardif et les sulfates de nickel et de manganèse ne donnent aucune réaction. L'insolubilisation du G 605 est donc conditionnée par la seule présence des ions Cu^{++}, Co^{++}, Ni^{++}, Zn^{++}, Mn^{++}, et Cd^{++}, quel que soit l'anion qui les accompagne; le précipité que donne le G 605 avec les différents sels d'un même métal nous est apparu d'ailleurs sous le même aspect microscopique. Dans la figure 46, nous avons représenté côte à côte les dérivés métalliques que fournissent l'I. N. H. et le G 605 avec le sulfate de cobalt et le sulfate de cadmium : les différences morphologiques entre les cristaux obtenus à partir des deux tuberculostatiques apparaissent très nettement. La figure 47 reproduit enfin l'aspect microscopique des sels de manganèse, de nickel et de zinc du G 605.

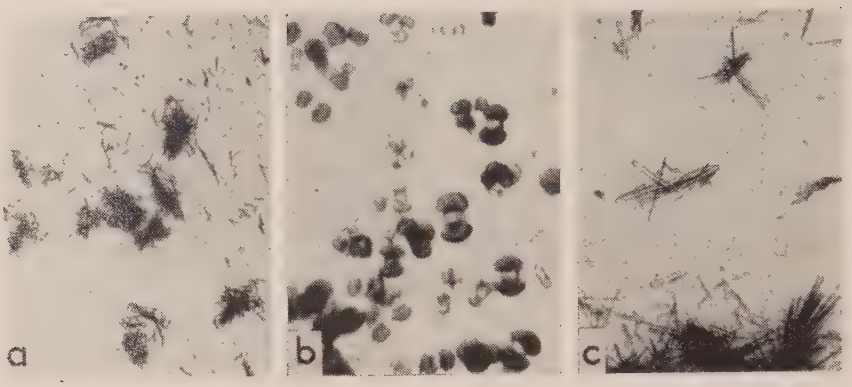

Fig. 47.

Aspect microscopique de quelques sels métalliques du G 605.

a, sel de manganèse,
b, sel de nickel,
c, sel de zinc.

En raison de la précipitation rapide de ses sels métalliques, il ne nous est donc pas possible d'apprécier la stabilité en solution aqueuse du G 605. Nous nous proposons de réaliser cette étude par la technique de chromatographie de partage.

II. — COMPLEXES MÉTALLIQUES DE L'AMIDE NICOTINIQUE

Les relations entre l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique et l'amide nicotinique sont nombreuses : rappelons qu'il s'agit dans les deux cas de composés pyridiniques et que l'amide nicotinique possède un pouvoir tuberculostatique qui, s'il est notablement inférieur à celui de l'I. N. H., est cependant manifeste; on se souvient d'ailleurs (voir pp. 11-13) que la vitamine P P est à la base de la découverte des propriétés antimycobactériennes de l'isoniazide. Nous avons préalablement signalé les travaux, cliniques ou expé-

rimentaux, qui conduisent à admettre un antagonisme entre l'I. N. H. et l'amide nicotinique (voir p. 22).

Comme l'activité tuberculostatique de l'isoniazide est en rapport avec certains ions métalliques, tout particulièrement avec les ions cupriques, il était intéressant de savoir si l'amide nicotinique était également capable de fournir des complexes métalliques avec les métaux lourds. Certains sels métalliques de l'acide nicotinique, qui possède lui aussi une action vitaminique, sont connus depuis longtemps; il existe un sel de cuivre neutre [123 bis] et un sel basique [144]; le sel d'argent a été préparé dès 1879 [107], et le sel de calcium a été décrit en 1873. Plus récemment, Sacconi [165] a démontré que les nicotinates de nickel, de cobalt et de manganèse répondaient aux formules suivantes :

$$Ni(C_6H_4O_2)_2,\ 4\ H_2O,$$
$$Co(C_6H_4O_2)_2,\ 4\ H_2O,$$
$$Mn(C_6H_4O_2)_2,\ 2\ H_2O.$$

Enfin, au cours d'études analytiques de différents composés pyridiniques, Amelink [5] puis Deltombe [50] ont signalé l'insolubilité dans l'eau des nicotinates de mercure, d'argent, de cuivre, de cadmium, de zinc, de fer (Fe^{+++}) et de cobalt. Les complexes métalliques de l'amide nicotinique ont donné lieu à un nombre encore plus restreint de communications : dans le même mémoire [165], Sacconi décrit les complexes cristallisés que l'on obtient en traitant une solution aqueuse d'amide nicotinique par les chlorures de cuivre, de nickel, de cobalt, de manganèse et d'argent. Tous ces composés, à l'exception des complexes cupriques et manganiques, comprennent des molécules d'eau de cristallisation :

$$2\ C_6H_6ON_2,\ CuCl_2,$$
$$2\ C_6H_6ON_2,\ NiCl_2,\ 6\ H_2O,$$
$$2\ C_6H_6ON_2,\ CoCl_2,\ 6\ H_2O,$$
$$2\ C_6H_6ON_2,\ MnCl_2,$$
$$2\ C_6H_6ON_2,\ AgNO_3,\ H_2O.$$

A. — Action des sels de cuivre

Le mélange de solutions aqueuses concentrées de sulfate de cuivre et d'amide nicotinique s'accompagne d'un renforcement important de la coloration bleue du sel métallique; après un moment de contact, un précipité bleu cristallin s'insolubilise progressivement. Nous avons recueilli ces cristaux bleu-foncé et, après lavage à l'eau glacée et séchage sous vide phosphorique prolongé à 37° C., nous les avons soumis à l'analyse élémentaire; au cours du séchage, nous avons constaté un éclaircissement notable de la coloration bleue des cristaux. Le complexe répond à la composition :

$$2\ C_6H_6ON_2,\ SO_4Cu,\ 2\tfrac{1}{2}\ H_2O.$$

Analyse :

$2\ C_6H_6ON_2,\ SO_4Cu,\ 2\frac{1}{2}\ H_2O$ (P M = 448,54).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	32,10	3,79	12,48
Trouvé	32,09	4,11	12,63
—	32,17	3,83	12,46

Il est très vraisemblable que les cristaux bleu foncé qui sont apparus au sein de la solution aqueuse correspondent à un complexe plus hydraté et que le changement de la coloration au cours du séchage traduit une déshydratation progressive. Le complexe obtenu avec le sulfate de cuivre possède la même structure générale 2 : 1 que celui synthétisé par Sacconi avec le chlorure cuivrique.

Le tableau X nous montre les conditions de formation du complexe avec le sulfate de cuivre.

Nous avons également obtenu des précipités bien cristallisés par action sur la solution aqueuse de l'amide nicotinique des nitrate, acétate et trichloracétate de cuivre,

TABLEAU X

ASPECT DES SOLUTIONS AQUEUSES DE SULFATE DE CUIVRE ET D'AMIDE NICOTINIQUE

		CONCENTRATION EN SULFATE DE CUIVRE				
		M/2	M/4	M/8	M/16	M/32
CONCENTRATION EN AMIDE NICOTINIQUE	M/2	↓ 2 h.	↓ 2 h.	↓ 2 h.	↓ T	0
	M/4	↓ 3 h.	↓ 4 h.	↓ T	↓ T	↓ T
	M/8	C	C	↓ T	↓ T	↓ T
	M/16	0	0	0	0	0

↓ 2 h. : précipité cristallin après deux heures;
↓ T : précipité cristallin apparu tardivement;
C : renforcement de la coloration bleue.

B. — ACTION DES SELS DE COBALT

Dans des conditions analogues à celles utilisées plus haut avec le sulfate de cuivre, le sulfate de cobalt fournit un précipité rosé constitué de très petites aiguilles enchevêtrées en oursins. Le précipité, après lavage, subit, au cours du séchage, un changement notable de coloration et, après quelques heures de séjour dans le vide phosphorique, apparaît constitué de cristaux violacés. L'analyse nous montre qu'il s'agit de l'hexahydrate du complexe 1 : 1.

Analyse :

$C_6H_6ON_2$, SO_4Co, 6 H_2O (P M = 384,94),

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	18,70	4,67	7,27
Trouvé	19,10	4,64	7,49
—	19,19	4,31	7,24

Ce complexe diffère donc nettement du précédent et diffère également du complexe que SACCONI a obtenu de son côté avec le chlorure de cobalt,

Les sulfocyanure et trichloracétate de cobalt donnent également, avec l'amide nicotinique, des précipités cristallins, tandis qu'avec les formiate, l'hyposulfite et l'acétate de ce même métal, nous n'avons eu que des résultats négatifs.

C. — Action des sels de nickel

Avec le sulfate de nickel, on obtient facilement de beaux cristaux bleutés qui verdissent au cours du séchage. Ici encore, c'est sur un produit ayant subi une dessiccation prolongée sous vide phosphorique à 37° C. que nous avons effectué l'analyse élémentaire.

Analyse :

$C_6H_6ON_2$, SO_4Ni, $3\frac{1}{2}$ H_2O (P M = 339.7).

	% C	% H	% N
Calculé	21,19	3,82	8,24
Trouvé	21,12	4,68	8,32
—	21,17	4,52	8,20

On peut penser, comme pour les dérivés précédents, que plusieurs hydrates du complexe 1 : 1 existent et perdent progressivement leur eau de cristallisation au cours du séchage.

Des complexes bien cristallisés se produisent aussi par action des sulfocyanure, hyposulfite et trichloracétate de nickel, mais non avec les bromure, nitrate, formiate, hypophosphite et acétate.

D. — Action d'autres sels métalliques

Les sulfates de zinc et de manganèse, utilisés cependant en solution aqueuse concentrée, n'ont fourni aucun précipité avec l'amide nicotinique. Il en est de même pour les acétate, trichloracétate et nitrate de zinc et les bromure, nitrate et trichloracétate de manganèse.

L'action du chlorure et de l'iodure de cadmium sur la nicotinamide a été décrite par Deltombe [50]. Nous avons remarqué, de notre côté, que l'addition à la solution aqueuse de vitamine de bromure ou de trichloracétate de cadmium s'accompagnait également de l'apparition d'un précipité blanc cristallin.

E. — Importance des complexes métalliques de l'amide nicotinique

Lorsque l'on examine comparativement la formation de complexes métalliques à partir de l'isoniazide et de l'amide nicotinique, on constate que la deuxième substance possède beaucoup moins d'affinité que le tuberculostatique pour les sels métalliques : en effet, le nombre de sels qui fournissent des complexes cristallisés peu solubles dans l'eau est moindre et de plus, pour un même sel, il est nécessaire de mettre en œuvre des solutions de concentration plus élevée, aussi bien pour le composé minéral que pour la molécule organique. Les complexes métalliques de la nicotinamide ne présentent donc que peu d'intérêt pour la diagnose microcristalloscopique de cette vitamine. Leur existence ouvre, au contraire, d'intéressantes perspectives biochimiques.

On sait que l'amide nicotinique est un agent thérapeutique très actif dans les cas d'intolérance ou d'intoxication aux composés sulfamidés [99, 47, 57]. Or, les sulfamides sont eux-mêmes capables de fournir des complexes métalliques, notamment avec les sels de métaux lourds [54, 53]. On peut donc se demander si les sulfamides ne manifestent pas leur toxicité en bloquant un ion métallique, coenzyme nécessaire au bon fonctionnement de certains systèmes enzymatiques. En présence de nicotinamide, il existerait une compétition entre la vitamine et le composé sulfamidé pour l'ion métallique : on entrevoit ainsi une nouvelle forme d'antagonisme biologique que nous retrouverons

bientôt en étudiant les complexes métalliques de la pyridoxine.

Le rôle favorable de l'amide nicotinique dans le mal des rayons peut s'expliquer d'une manière analogue : les radiations ionisantes agissent, en partie du moins, en décomposant les molécules d'eau et en formant de l'eau oxygénée; on sait, en effet, que la présence d'oxygène augmente la radiosensibilité d'une façon très importante [9, 11]; ces phénomènes d'oxydation sont catalysés par des oligo-éléments métalliques (Cu^{++}, Co^{++}, Ni^{++}, Zn^{++}...) et la nicotinamide bloquerait l'activité de ces ions.

Les corrélations entre les vitamines et les sels métalliques, longtemps négligées par les chercheurs, semblent depuis quelques années constituer un chapitre important du métabolisme intermédiaire. La vitamine B_2 donne des complexes chélatés avec plusieurs métaux [3, 74], et Guareschi et Anichini viennent de démontrer l'action antitumorale de ces dérivés [89]. Rappelons également la présence de cobalt dans la molécule de la vitamine B_{12}. Nous décrirons enfin, en terminant ce chapitre, nos propres recherches sur les complexes métalliques de la vitamine B_6.

F. — Complexes métalliques de substances voisines de la nicotinamide

La présence d'un groupement amide libre semble important pour la formation de complexes métalliques insolubles. Nous avons en effet remarqué que la N-diéthylnicotinamide ne fournit aucun précipité avec les sulfates de cuivre, cobalt, nickel, manganèse, zinc et cadmium, pas plus qu'avec les monochloracétates de cuivre, de zinc et de manganèse. Des résultats négatifs analogues ont été obtenus par Dister [52] avec le nitrate de cobalt, le chlorure cuivreux, les perchlorate et acétate cadmiques. Nous avons noté, cependant, que la présence de N-diéthylnicotinamide renforce considérablement la coloration bleue

des solutions renfermant des ions cupriques, tandis que les solutions de sels de nickel prennent une coloration bleu-vert. Dister *(loc. cit.)* a toutefois obtenu des précipités amorphes avec les iodure, chlorure et sulfocyanure cadmiques; le sulfocyanure de cobalt précipite quantitativement ce dérivé pyridinique, tandis que le sulfocyanure de cuivre donne un précipité vert soluble dans le chloroforme en donnant une solution verte.

Avec la N-méthyloxynicotinamide (voir p. 39), les sulfates de cuivre, de cobalt et de nickel fournissent facilement des précipités cristallins. L'obtention d'un précipité blanc avec le chlorure mercurique a été signalée par ailleurs par Braun [17].

III. — COMPLEXES MÉTALLIQUES DES FACTEURS VITAMINIQUES B_6

Les vitamines du complexe B_6, représentées par la pyridoxine, le pyridoxal et la pyridoxamine, possèdent également le noyau de la pyridine (voir p. 24) ; aussi, de nombreux chercheurs ont-ils examiné les rapports éventuels entre les facteurs B_6 et l'isoniazide.

Boone et Woodward [16 bis] ont montré qu'il est possible d'inhiber par l'I. N. H. la pousse de certains micro-organismes *(Lactobacillus plantarum* et *Saccharomyces carlsbergensis)* normalement insensibles au tuberculostatique, en contrôlant la concentration de la vitamine B_6 dans le milieu de culture; l'inhibition apportée par l'I. N. H. peut être levée par la pyridoxine, le pyridoxal et la pyridoxamine, cette dernière substance se montrant mille à quatre mille fois plus active que la première. Les résultats sont beaucoup plus contradictoires dans le cas du *Mycobacterium tuberculosis*. Sella et ses collaborateurs [177] ont remarqué qu'une forte concentration en pyridoxine permet le développement du B. K. en présence de l'hydrazide *iso-*

nicotinique; des résultats analogues ont été avancés par Pope [153], mais l'antagonisme I. N. H.-vitamine B_6 n'a pas pu être mis en évidence par Schaefer [172] ni par Boone et Woodward [16 bis], en prenant le bacille tuberculeux comme réactif biologique.

Nous avons déjà signalé les recherches de Yoneda et Asano [196] sur l'action de l'INH sur les acidamino-décarboxylases microbiennes qui requièrent le phosphate de pyridoxal comme coenzyme; ces mêmes auteurs [196] ont retrouvé l'antagonisme I. N. H.-vitamine B_6 en étudiant la tryptophannase d'*E. coli*.

Les cliniciens ont également apporté sur ce problème une contribution intéressante en montrant que l'action convulsivante des fortes doses d'hydrazide de l'acide *iso*-nicotinique peut être enrayée par la pyridoxine [157 bis].

Vilter et ses collaborateurs [189] viennent enfin de montrer que, chez les patients soumis au traitement par l'I. N. H., l'élimination urinaire de vitamine B_6 augmente considérablement. L'administration de tryptophanne entraîne chez les sujets une élimination exagérée d'acide xanthurénique : or, nous avons signalé (voir p. 24) le rôle des vitamines B_6 dans le métabolisme du tryptophanne. Vilter et collaborateurs *(loc. cit.)* ont également montré le rôle préventif de la pyridoxine vis-à-vis de l'apparition de polynévrites chez les malades soumis à de très fortes doses d'I. N. H.; pour ces auteurs, l'I. N. H. serait capable d'inactiver le pyridoxal en le transformant en *iso*nicotinylhydrazidone correspondante, composé qui a d'ailleurs été synthétisé par d'autres chercheurs [16, 167, 113].

Il est remarquable de constater que le phosphate de pyridoxal, en présence de certains ions métalliques, est capable de réaliser les réactions chimiques que ce même phosphate de pyridoxal réalise *in vivo* lorsqu'il se trouve compris dans un système enzymatique; les réactions de transamination [182 bis] peuvent donc être comprises par la forma-

tion d'une base de Schiff stabilisée par la chélation introduite par un ion métallique (fig. 48).

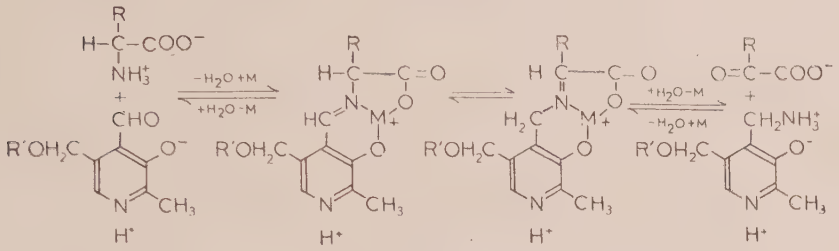

Fig. 48.

Mécanisme de la réaction de transamination par le pyridoxal.
(D'après Snell [182].)

Des mécanismes analogues ont été invoqués pour la racémisation des aminoacides [146], le clivage des hydroxyaminoacides [125], la décarboxylation de l'histidine [90], la désamination oxydative des aminoacides [94] et la dégradation de la cynurénine [117]. Tous ces faits nous ont invité à examiner le comportement des vitamines B_6 en présence de sels métalliques, et ceci d'autant plus que les acidaminodécarboxylases à coenzyme constitué par le pyridoxal se montrent également mobilisées par des sels de métaux lourds [74 bis]. D'ailleurs, Baddiley [8 bis], dès 1952, avait pu isoler des complexes pyridoxal-métal-amino-

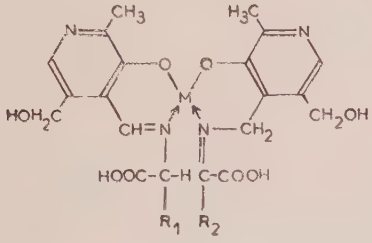

Fig. 49.

Complexe chelaté
pyridoxal-métal-aminoacide.

acide, dont la structure est représentée sur la figure 49 et, plus récemment, Eichhorn et Dawes [61] ont également confirmé l'existence de complexes analogues.

A. — Etude potentiométrique des solutions de pyridoxine en présence de sels métalliques

Lorsqu'on ajoute à une solution aqueuse de chlorhydrate de pyridoxine une solution aqueuse de sulfate de cuivre, on observe l'apparition d'une coloration verte qui diffère nettement de la coloration bleue initiale de la solution du sel métallique; le changement de coloration, antérieurement signalé par Laubie [109], s'accompagne également d'une baisse de *p*H.

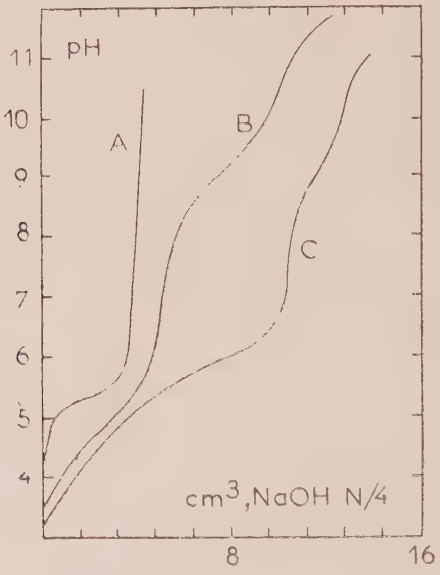

Fig. 50.

Etude potentiométrique
des complexes pyridoxine sulfate de cuivre.

Variations du pH au cours de la neutralisation de solution de :

A : SO_4Cu, M/80;
B : Pyridoxine (HCl), M/40;
C : SO_4Cu, M/80 Pyridoxine (HCl), M/40;
(Echantillons de 50 cm³.)

Si l'on neutralise alors le mélange avec de la soude, on constate un renforcement important de la teinte verte primitive. Lorsqu'on a versé un volume de soude assez important, un précipité bleu-vert apparaît, qui s'avère très peu soluble dans l'eau, mais facilement soluble dans les acides dilués; rappelons qu'en l'absence de pyridoxine, les autres conditions étant égales, une très faible quantité de soude amène la précipitation de l'hydroxyde cuprique.

Nous avons réalisé une étude potentiométrique des solutions de sulfate de cuivre, de chlorhydrate de pyridoxine et du mélange de ces deux produits (*); la figure 50 nous montre les courbes ainsi obtenues. Si la pyridoxine ne

TABLEAU XI

Complexes métalliques de la pyridoxine.

Sel métallique	Sel métallique, M/80			Sel métallique, M/80 Pyridoxine (HCl), M/40		
	I	II	III	I	II	III
Sulfate de cuivre.....	4,81	0,5	5,45	3,32	5,5	5,70
Nitrate de cuivre.....	4,66	1,0	5,37	3,10	6,0	5,66
Chlorure de cobalt.....	5,81	0,5	8,60	3,27	6,0	8,04
Nitrate de cobalt.....	5,49	1,0	8,19	3,25	6,5	8,25
Sulfate de nickel.....	5,53	0,5	7,89	3,36	6,0	7,93
Nitrate de nickel.....	5,95	0,5	7,92	3,27	5,5	7,60
Sulfate de magnésium.....	5,48	0,5	10,47	3,34	10,5	10,52

I : *p*H initial de la solution;
II : quantité de soude N/4 nécessaire à obtenir l'apparition d'un précipité, exprimée en cm^3;
III : valeur du *p*H de la solution au moment de l'apparition du précipité.

(Les essais ont été effectués sur des échantillons de 50 cm^3; le *p*H de la solution de chlorhydrate de pyridoxine M/40 est de *p*H = 3,27).

(*) L'étude a été réalisée avec un *p*H-mètre PHM 3 Radiometer, à la température de 20° C.

fournissait aucun complexe avec le sulfate de cuivre, la courbe de neutralisation du mélange de la vitamine et du sel minéral ne serait que la résultante de l'addition des courbes A et B; l'allure de la courbe C nous montre que ce n'est pas le cas et confirme donc l'existence du complexe.

Nous avons obtenu des courbes potentiométriques tout à fait analogues avec de nombreux sels métalliques différents. Nous avons groupé dans les tableaux XI et XII la valeur du *p*H de la solution aqueuse du sel métallique, le volume minimum de solution de soude nécessaire à obtenir un précipité et la valeur du *p*H de la solution au moment où le précipité apparaît; ces trois données sont aussi rapportées pour les mélanges du sel métallique avec la pyridoxine.

TABLEAU XII

Complexes métalliques de la pyridoxine.

Sel métallique	Sel métallique, M/40			Sel métallique, M/40 Pyridoxine (HCl), M/20		
	I	II	III	I	II	III
Sulfate de cuivre.....	4,70	0,5	5,17	2,98	6,0	5,69
Chlorure de cuivre.....	4,57	0,5	4,76	2,98	5,5	5,50
Sulfate de cobalt.....	4,80	0,5	7,67	3,16	6,0	7,91
Sulfate de nickel.....	6,42	0,5	7,76	3,21	6,0	7,93
Sulfate de manganèse.....	3,08	0,5	8,60	2,94	9,5	9,34
Sulfate de zinc.....	6,51	0,5	6,57	3,19	5,0	6,43

I : *p*H initial de la solution;
II : quantité de soude N/2 nécessaire à obtenir l'apparition d'un précipité, exprimée en cm^3;
III : valeur du *p*H de la solution au moment de l'apparition du précipité.

(Les essais ont été effectués sur des échantillons de 50 cm^3; le *p*H de la solution de chlorhydrate de pyridoxine M/20 est de *p*H = 3,12).

B. — Préparation du complexe pyridoxine-cuivre

Nous avons essayé d'obtenir le complexe cuprique de la pyridoxine en ajoutant une solution concentrée de sulfate de cuivre à une solution concentrée de chlorhydrate de pyridoxine : nos essais ont été infructueux et, chaque fois qu'un précipité est apparu, nous avons constaté son hétérogénéité; le précipité se montrait en effet être un mélange de cristaux bleus de sulfate de cuivre et cristaux blancs de pyridoxine. Ces échecs proviennent de ce que l'on opère en milieu acide; aussi, avons-nous réalisé le mélange :

Pyridoxine (HCl), M/5 ..... 25 cm³
SO_4Cu, M/20 ..... 25 cm³

que nous avons amené à *p*H = 7 avec de la soude N/2; le précipité bleu-vert a été centrifugé et lavé à quatre reprises avec de l'eau distillée; remarquons que ce précipité a été obtenu en présence d'un excès de vitamine B_6, afin d'éviter la précipitation d'hydroxyde cuivrique.

Après séchage prolongé dans le vide phosphorique à 37° C., nous avons alors soumis le précipité à l'analyse élémentaire après avoir montré qu'il renfermait une quantité très appréciable de chlore (technique de Feigl [65]), mais qu'il était dépourvu de sulfate.

Analyse :

2 $C_8H_{11}NO_3$, $CuCl_2$ (P M = 472,79).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	40,64	4,68	5,92
Trouvé	42,47	3,79	5,82
—	42,39	4,04	6,12

Les résultats analytiques ci-dessus ne se rapprochent évidemment que d'assez loin de la constitution théorique du chlorhydrate du sel cuprique de la pyridoxine, composé dans lequel le métal serait lié à l'atome d'oxygène de l'hy-

droxyle à caractère phénolique. Cette dernière structure ne doit cependant pas être exclue, car l'analyse a été effectuée sur un produit lavé et non recristallisé. Il est évident que des investigations complémentaires sont nécessaires sur ce point particulier.

C. — Etude spectrophotométrique du complexe cuprique de la pyridoxine

Nous avons signalé ci-dessus le changement de teinte qui accompagne le mélange de solutions aqueuses de sulfate de cuivre et de chlorhydrate de pyridoxine. Pour préciser le phénomène, nous avons effectué des mesures de la densité optique des solutions de sulfate de cuivre, de chlorhydrate de pyridoxine et du mélange de ces deux substances, au moyen du spectrophotomètre de Beckmann. Nous avons

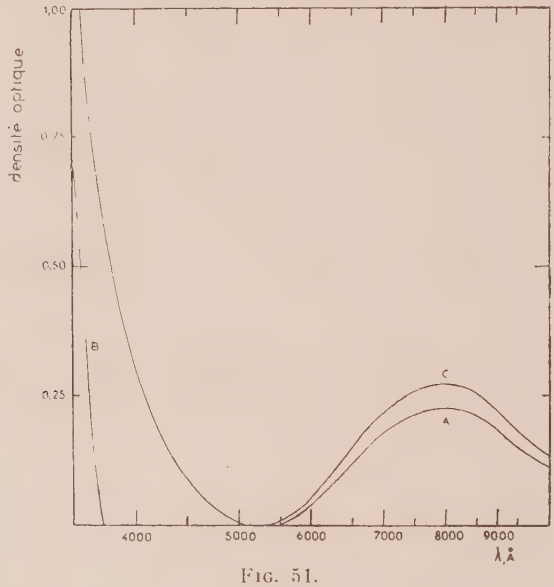

Fig. 51.

Spectres d'absorption de solutions de sulfate de cuivre, de chlorhydrate de pyridoxine et du mélange des deux substances.
A : SO_4Cu, M/50; *p*H = 3,05;
B : Pyridoxine (HCl), M/25; *p*H = 3,15;
C : SO_4Cu, M/50; pyridoxine (HCl), M/25; *p*H = 3,08.

pris bien soin d'amener les trois solutions à un *p*H voisin, car le spectre d'absorption de la pyridoxine est nettement influencé par la réaction du milieu [185 bis]. La figure 51 groupe les courbes obtenues pour des longueurs d'ondes comprises entre 3.500 A et 10.000 Å; pour des longueurs d'ondes inférieures, nous n'avons pas observé de modifications notables.

La neutralisation du mélange sulfate de cuivre-chlorhy-

TABLEAU XIII

INFLUENCE DU *p*H SUR L'ABSORPTION DES SOLUTIONS DE SULFATE DE CUIVRE, DE CHLORHYDRATE DE PYRIDOXINE ET DU MÉLANGE DE CES DEUX SUBSTANCES.

SO_4Cu, M/80		PYRIDOXINE (HCl) M/40		SO_4Cu, M/80 PYRIDOXINE (HCl), M/40	
I	II	I	II	I	II
3,02	0	3,1	0	3,20	14
3,21	0	3,45	0	3,49	23
4,00	0	3,76	0	3,71	35
4,67	0	4,04	0	3,98	53
»	»	4,59	0	4,16	70
»	»	4,87	0	4,28	81
»	»	5,16	0	4,34	90
»	»	»	»	4,55	113
»	»	»	»	4,72	132
»	»	»	»	5,02	157
»	»	»	»	5,20	172
»	»	»	»	5,27	177
»	»	»	»	5,38	180.

I : valeur du *p*H des solutions;
II : valeur de l'absorption optique (mesure avec l'électrophotomètre de MEUNIER, écran 43; les chiffres donnés sont ceux du tambour de l'appareil).

drate de pyridoxine s'accompagne d'un renforcement progressif de la coloration bleu-vert, et ceci jusqu'à l'apparition du précipité. Le tableau XIII nous donne l'aspect quantitatif de ce phénomène.

D. — Etude potentiométrique des solutions de pyridoxamine en présence de sels métalliques

Puisque la pyridoxamine semble être une forme d'activité biologique de la pyridoxine, nous avons répété les expériences d'électrotitrations précédentes sur ce dérivé. Ici encore, l'existence d'un complexe métallique est prouvée par le changement de coloration et les différences observées au cours de la neutralisation des solutions de divers sels métalliques en présence et en l'absence de pyridoxamine; nos résultats sont groupés dans le tableau XIV.

TABLEAU XIV

Complexes métalliques de la pyridoxamine.

Sel métallique	Sel métallique, M/160			Sel métallique, M/160 Pyridoxamine (2 HCl), M/80		
	I	II	III	I	II	III
Sulfate de cuivre.....	5,54	0,5	5,47	2,67	11,5	8,76
Sulfate de cobalt.....	5,19	0,5	7,96	2,65	11,0	9,39
Sulfate de nickel.....	5,56	0,5	7,99	2,69	11,0	9,63
Sulfate de manganèse.....	3,59	0,5	8,56	2,66	8,5	8,93
Sulfate de zinc.....	6,86	0,5	6,90	2,70	7,5	7,72
Sulfate de magnésium.....	6,35	1,5	10,61	2,69	11,5	10,90

I : *p*H initial de la solution;
II : quantité de soude N/8 nécessaire à obtenir l'apparition d'un précipité, exprimée en cm^3;
III : valeur du *p*H de la solution au moment de l'apparition du précipité.
(Les essais ont été effectués sur des échantillons de 50 cm^3; le *p*H de la solution de dichlorhydrate de pyridoxamine M/80 est de *p*H = 2,69).

Les différents précipités obtenus ne présentent pas le même aspect que ceux préparés dans les mêmes conditions à partir de la pyridoxine; avec la pyridoxamine, le précipité se montre vert-foncé en présence de cuivre, bleu-vert en présence de nickel et brun en présence de manganèse; avec les ions cobalt, la réaction semble plus complexe : au cours de la neutralisation, les premières gouttes de soude entraînent l'apparition d'une volute jaunâtre qui se dissout en colorant le liquide en rose-jaune puis en jaune-orangé et, enfin, en jaune-brun; le précipité apparaît coloré en vert.

E. — Intérêt biologique des complexes métalliques des vitamines B_6

Les expériences précédentes constituent un nouvel élément en faveur des corrélations entre les vitamines et les sels métalliques. Nous avons vu plus haut comment certains ions catalysent les réactions de transamination, de décarboxylation (p. 108) en présence de pyridoxal ou du phosphate de pyridoxal. Il semble donc que l'ion métallique puisse contracter une liaison avec la vitamine B_6, alors qu'elle se trouve encore sous la forme de pyridoxine qui est le facteur vitaminique B_6 le plus répandu dans l'alimentation. La transformation de la pyridoxine en pyridoxamine ou en pyridoxal s'effectue peut-être sur le complexe métallique de la première substance qui se trouve ainsi directement convertie en un complexe métallique biologiquement actif de la pyridoxamine ou du pyridoxal. Nous espérons que des recherches purement biochimiques viendront appuyer (ou infirmer) notre hypothèse, dont nous avons néanmoins fourni le substratum chimique.

L'existence de complexes métalliques de la pyridoxine nous conduit également à envisager l'antagonisme entre l'isoniazide et les facteurs B_6 comme une compétition pour un même ion métallique. Nous avons pu montrer l'exis-

tence de cette compétition *in vitro* par les expériences suivantes :

1° En présence de pyridoxine, la précipitation du complexe I. N. H — SO_4Cu est nettement retardée. Le tableau ci-dessous nous indique les temps de précipitation, en fonction de la concentration en pyridoxine, d'une solution contenant 0,26 p. 100 de sulfate de cuivre et 0,14 p. 100 d'isoniazide.

Concentration en pyridoxine (g p. 100)	Temps de précipitation
0	5 mn.
0,025	10 —
0,05	12 —
0,1	15 —
0,2	18 —
0,4	18 —
0,8	19 —
1,6	25 —
3,2	60 —

Au cours de cette expérience, nous avons remarqué que le précipité, bleu-vert en l'absence de pyridoxine, devient de plus en plus jaune lorsque la concentration en vitamine croît.

2° Les solutions concentrées de chlorhydrate de pyridoxine, mises en présence du complexe I. N. H. — SO_4Cu, le dissocient partiellement, comme en témoigne l'apparition d'une coloration jaune-vert des solutions vitaminiques; au contact du liquide, le complexe métallique de l'isoniazide prend également une coloration jaune-vert.

CONCLUSIONS DU TROISIÈME CHAPITRE

Ce chapitre contient nos recherches sur les complexes métalliques de divers composés pyridiniques d'intérêt biologique.

L'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique fournit des

complexes insolubles avec de nombreux sels de cuivre, de cobalt, de nickel, de zinc, de manganèse et de cadmium; les concentrations limites permettant l'obtention de précipités ont été notées dans plusieurs cas. L'isoniazide inhibe enfin la fluorescence du nitrate d'uranyle. Nous avons également étudié le comportement vis-à-vis des sels métalliques de tuberculostatiques voisins de l'I. N. H., l'*iso*nicotinylhydrazidone de la glycuronolactone, le sel de sodium de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide *m*-formylbenzène sulfonique et le méthane sulfonate sodique de l'isoniazide.

Les vitamines de structure pyridinique, amide nicotinique, pyridoxine et pyridoxamine sont également capables de fournir des complexes métalliques. Tandis que les complexes de la vitamine P P s'insolubilisent facilement sous la forme cristalline, on ne peut accéder, au contraire, aux dérivés métalliques de la pyridoxine et de la pyridoxamine que par des techniques indirectes, notamment des mesures potentiométriques et spectrophotométriques. L'existence de ces complexes métalliques de vitamines nous a conduit à émettre des hypothèses sur la compétition entre l'isoniazide et les vitamines pyridiniques.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

I

Dans la première partie de notre travail, nous avons montré comment la découverte des composés sulfamidés était à la base de la mise en évidence des propriétés tuberculostatiques de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique : la légère action que manifestent sur le B. K. certains sulfamides à noyau thiazol ou à noyau thiodiazol a conduit Domagk et ses collaborateurs à l'étude des thiosemicarbazones. L'amide nicotinique s'étant montrée, entre les mains de Chorine (1945), assez active sur le bacille tuberculeux, Levaditi essaya de grouper dans la molécule de la thiosemicarbazone de l'aldéhyde nicotinique les propriétés biologiques des thiosemicarbazones et du noyau pyridinique : cette nouvelle voie s'avéra fructueuse et les chimistes des laboratoires de recherches de deux grandes firmes pharmaceutiques américaines purent, en 1951, montrer que l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique, produit intermédiaire au cours des réactions de synthèse, possédait un pouvoir tuberculostatique encore jamais atteint.

Nous avons indiqué, en terminant cette première partie, quelques caractéristiques physiques et chimiques de l'isoniazide.

II

Nous avons ensuite passé rapidement en revue les composés pyridiniques de structure voisine en nous limitant à ceux dont l'importance physiologique ou pharmacodynamique a été pleinement démontrée. Le noyau de la

pyridine se retrouve dans la vitamine P P et participe, au sein des codéhydrases I et II, à de nombreuses réactions du métabolisme intermédiaire. Des dérivés de l'amide nicotinique, notamment la N-diéthyl-nicotamide ou coramine et l'oxyméthylnicotamide ou bilamide, constituent des médicaments intéressants. Le « complexe B_6 », avec la pyridoxine, la pyridoxamine, le pyridoxal et le phosphate correspondant, apporte une preuve supplémentaire en faveur du rôle primordial des dérivés pyridiniques dans les réactions enzymatiques. Nous rappelons enfin que le noyau de la pyridine fait partie intégrante de la structure de produits aussi actifs que la quinine, la nicotine et la série des acridines.

III

La troisième partie de notre travail inaugural est entièrement consacrée à l'exposé de nos recherches originales.

Premier chapitre

Dans ce premier chapitre, nous rapportons la préparation de nouveaux sels de l'isoniazide, non encore décrits; l'isoniazide fournit, en effet, des composés bien cristallisés avec les acides : perchlorique, *o*-phtalique, dinitro-2,5-benzoïque, dinitro-3,5-benzoïque, dinitro-3,5-salicylique, sulfosalicylique, résorcylique, cinnamique, benzène sulfonique, *m*-nitrobenzène sulfonique, naphtalène sulfonique.

L'action de ces différents acides sur quelques composés pyridiniques est également décrite et nous a conduit à isoler notamment le sulfosalicylate de nicotinamide et les dinitro-3,5-salicylates de nicotinamide et de pyridoxamine.

Deuxième chapitre

L'isoniazide possède une chaîne latérale hydrazidique qui est responsable de sa réactivité avec les composés carbonylés.

1° De nombreuses *iso*nicotinylhydrazidones ont été décrites. Nous nous sommes attaché à l'étude de celles dont le facies cristallin et la facilité de production rendent possible la diagnose microcristalloscopique de l'isoniazide; nous avons pu montrer que les aldéhydes salicylique et cinnamique permettent la caractérisation de 15 γ du tuberculostatique. Au cours de cette étude, nous avons décrit en outre quatre nouveaux dérivés de l'isoniazide : les monohydrates des *iso*nicotinylhydrazidones de l'aldéhyde anisique et de l'aldéhyde protocatéchique, le monohydrate de la N-*iso*nicotinyl-N'-(1-*D*-galacturonyl) hydrazine ainsi que l'*iso*nicotinylhydrazidone de la benzylidène acétone.

2° L'isoniazide donne des réactions colorées avec le diacétyle en milieu basique, l'acétylacétone en milieu neutre et avec des colorants azoïques à groupement aldéhydique libre (G-orange et rouge chromazone).

3° L'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique, en présence de composés carbonylés et de divers acides, fournit des sels d'*iso*nicotinylhydrazidones : en mettant en jeu les acides benzène sulfonique, *o*-toluène sulfonique, *p*-toluène sulfonique, *m*-nitrobenzène sulfonique, trichloracétique et maléique et quatorze composés carbonylés différents, nous avons pu préparer plus de cinquante nouveaux dérivés de l'isoniazide. Pour plusieurs d'entre eux, nous indiquons la valeur du pouvoir tuberculostatique. Nous discutons enfin de l'intérêt de ces substances comme médicaments tuberculostatiques à action retard.

4° Nous avons examiné la réactivité avec les composés carbonylés de trois dérivés de l'isoniazide utilisés en clinique humaine.

Troisième chapitre

Ce dernier chapitre est consacré à l'étude des composés que l'on obtient par action de l'isoniazide sur les sels métalliques. L'emploi de métaux, qui interviennent par

ailleurs dans le fonctionnement de divers systèmes enzymatiques (cuivre, cobalt, nickel, manganèse, zinc), nous permet d'émettre des hypothèses sur le mécanisme d'action du nouveau tuberculostatique. La compétition qui semble exister entre l'isoniazide et les vitamines de structure pyridinique nous a amené à réaliser également une étude des complexes métalliques de l'amide nicotinique (ainsi que de ses dérivés), de la pyridoxine et de la pyridoxamine. L'action des sels métalliques sur quelques médicaments tuberculostatiques voisins de l'isoniazide termine ce chapitre.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu :
Pour le Doyen :
L'Assesseur,
R. SIGALAS.

Vu, bon à imprimer :
Le Président,
F. TAYEAU.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 25 Juin 1955.
Le Recteur,
E. DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE *

1. Aggarwal J. S., Darbari N. L. & Ray J. N. — Phtalazines *J. chem. Soc.*, 1929, pp. 1941-1945.
2. Albert A. — The affinity of *Iso*nicotinic Hydrazide for Metals. *Experientia*, 1953, **9**, 370.
3. Albert A. — Quantitatives studies of the avidity of naturally occuring substances for trace metals : 3-pteridines, riboflavin and purines. *Biochem. J.*, 1953, **54**, 646-654.
4. Albert A., Gibson M. I. & Rubbo S. D. — The influence of chemical constitution on antibacterial activity. Part. VI. The bactericidal action of 8-hydroxyquinoline (oxine). *Brit. J. exptl. Path.*, 1953, **34**, 119-130.
5. Amelink F. — Identificatie van enkele nieuwe geneesmiddelen langs microchemische weg. *Pharm. Weekbl.*, 1952, **87**, 821-836.
6. Anastasi A., Mecarelli E. & Novacic L. — Ueber die Anwendung elektrometrischer Methoden zur Bestimmung pharmazeutischer Produkte. VII. Die Bestimmung der Hydrazids der *Iso*-Nicotinsäure. *Mikrochem., mikrochim. Acta*, 1952, **40**, 53-59.
7. Angelico R., Caló A., D'Amore A., Mariani A., Mariani-Marelli O. & Scanga F. — Ricerche sull' idrazide dell' acido *iso*nicotinico. *R. C. Istit. sup. Sanità*, 1952, **15**, 627-703.
8. Audrieth L. F. & Ackerson Ogg B. — The chemistry of hydrazine, 1 vol., 244 p., J. Wiley and sons edit., New-York, 1951; chap. 9 « coordination compounds of hydrazine », pp. 181-196.

8 bis. Baddiley J. — Pyridoxal derivatives in transamination. *Nature*, 1952, **170**, 711-712.

9. Baker W. K. & Sgourakis E. — The effect of oxygen concentration on the rate of X-Ray induced mutations in Drosophila. *Proc. nat. Acad. Sci.*, 1950, **36**, 176-184.

(*) Les références bibliographiques sont abrégées en conformité avec l'ouvrage récemment publié par l'UNESCO : Les périodiques médicaux dans le monde, 1 vol., 237 p., Who and Unesco et Masson & C^ie^, édit., Paris, 1953.

10. Ballard C. W. & Scott P. G. W. — Photometric determination of *iso*nicotinylhydrazid and of 4-picoline. *Chem. and Ind.*, 1952, p. 715.
11. Barron G. & Flood V. — Studies on the mechanism of action of ionizing radiations. VI. The oxydation of thiols by Ionizing Radiations. *J. gen. Physiol.*, 1950, **33**, 229-241.
12. Barry V. C. & Mitchell P. W. D. — The condensation of Glyoxal and *iso*-Nicotinoylhydrazine (Isoniazid). *J. chem. Soc.*, 1953, pp. 3723-3725.
13. Behnisch R., Mietzsch F. & Schmidt H. — Neue Schwefelhaltige Chemotherapeutika. *Z. angew. chem.*, 1948, **60 A**, 113-115.
14. Bergel M. — La deactivación de prooxigenos metálicos como punto de partida de una nueva quimioterapia en tuberculosis. *Rev. méd. Rosario*, 1951, **41**, fasc. 1, 2 et 3; *Sem. méd. (B.-Aires)*, 1952, **100**, 347-352.
15. Bernstein J., Lott W. A., Steinberg B. A. & Yale H. L. — Chemotherapy of experimental tuberculosis. V. *Iso*nicotinic acid hydrazid (Nydrazid) and related compounds. *Amer. Rev. Tuberc.*, 1952, **65**, 357-364.
16. Beyerman H. C., Bontekoe J. S., Van Der Burg W. J. & Veer W. L. C. — The synthesis of compounds structurally related to *iso*nicotinic acid hydrazide. *Rec. Trav. chim.*, 1954, **73**, 109-117.
16 bis. Boone I. U. & Woodward K. T. — Relation of pyridoxine and its derivatives to the mechanism of action of isoniazid. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1953, **84**, 292-296.
17. Braun J. — Identité et dosages de quelques dérivés de l'acide nicotinique seuls et en mélange dans les spécialités pharmaceutiques. *J. Pharm. Belg.*, 1952, **7**, 427-441.
18. Brouet G., Halpern B. N., Marche J., Mallet J. & Chrétien J. — Etude expérimentale et clinique de l'*iso*nicotylhydrazone de la glycuronolactone. *Rev. Tuberc.*, 1953, **17**, 789-824.
19. Businelli M. & Rocchi B. — Metodi di dosaggio dell'idrazide dell'acido *iso*nicotinico. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1952, **7**, 153.
20. Buu-Hoï N. P., Xuong Ng. D., Binon F. & Nam Ng. H. — Sur le mécanisme d'action des hydrazides tuberculostatiques. *C. R. Acad. Sci.*, 1952, **235**, 329-331.
21. Buu-Hoï N. P., Xuong Ng. D., Nam Ng. H., Binon F. & Royer R. — Tuberculostatic Hydrazides and their derivatives. *J. chem. Soc.*, 1953, pp. 1358-1364.
22. Caló A., Mariani A. & Mariani-Marelli O. — Le contrôle des préparations pharmaceutiques à base d'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique. *J. Pharm. Belg.*, 1952, **7**, 377-385.
23. Capel F. — Premières observations sur le sel de sodium de l'acide benzal*iso*nicotinylhydrazone-métasulfonique

(G. 605) dans le traitement de la tuberculose. Thèse Doct. Méd., Paris, 1953; 34 p. dact., 5 tabl. h. t., 3 pl. h. t.

24. Carl E. & Marquardt P. — Kupferkomplexbildung und tuberkulostatische chemotherapeutica. *Z. Naturforsch.*, 1952, **7 b,** 574; *Z. Naturforsch.*, 1949, **4 b,** 280-283.

25. Carrara G., Chiancone F. M., d'Amato V., Ginoulhiac E., Martinuzzi C., Teotino U. M. & Viscontini N. — Primo contributo alla conoscenza dell' attività antitubercolare delle idrazide. *Gazz. chim. ital.*, 1952, **82,** 652-670.

26. Carrara G., d'Amato V., Rolland G. & Fursapoli E. — Sintesi di analoghi dell'idrazide dell'acido *iso*nicotinico e loro proprietá antitubercolari-II. *Gazz. chim. ital.*, 1953, **83,** 459-475.

27. Cattaneo C. & Morellini M. — Sulle proprietá antitubercolari della idrazide dell'acido *iso*nicotinico. *Lotta c. Tuberc.*, 1952, **22,** 145-153.

28. Caujolle F., Delas R., Gayrel P. & Lagreu R. — Action antiseptique de l'acide phénylborique seul ou associé à certains sels métalliques. *Ann. pharm. franç.*, 1954, **12,** 113-121.

29. Cavallini G., Mantegazza P., Massarani E., Mazzuchi F., Ravenna F. et Tommasini R. — Attività antitubercolare *in vitro* di alcune idrazidi ed *iso*nicotinil-idrazoni. *Atti Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1952, **7,** fasc. spéc., pp. 161-164.

30. Cavallini G., Massarani E., Mazzuchi F. & Ravenna F. — Sopra alcune idrazid ed *iso*nicotinilidrazoni. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1952, **7,** 138-145.

31. Cedrangolo F. — Idrazide dell'acido *iso*nicotinico ed acido glutammico. *Biochim. applicata*, 1954, **1.**

32. Cedrangolo F., Gioia A. & Bagnulo R. — Diminuita tossicitá dell'idrazide dell'acido *iso*nicotinico in associazione con l'acido glutammico I, II, III. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1953, **29,** 34-41.

33. Ceriotti G. — Contributo allo studio dell'idrazide dell'acido *iso*nicotinico (Nota I). Tossicitá ed attività antibatterica. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1952, **7,** 146.

34. Ceriotti G., Defranceschi A., de Carneri I. & Zamboni V. — A comparative study on the metabolism of *iso*nicotinic acid hydrazid and of *iso*nicotinoyl-hydrazinomethanesulphonic acid in the rat. *Brit. J. Pharmacol.*, 1953, **8,** 356-365.

35. Ceriotti G. & Franceschini J. — Dati biologici e microbiologici su un nuovo derivato della idrazide dell'acido *iso*nicotinico a bassa tossicitá e ad alta attività. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1953, **93,** 105-117.

36. Charonnat R. & Boime A. — Sur le chlorhydrate, le bromhydrate et les iodométhylates isomères de la *para*diméthylaminobenzaldéhyde *iso*nicotylhydrazone. *C. R. Acad. Sci.*, 1953, **236,** 2251-2252.

37. Charonnat R. & Boime A. — Propriétés et constitution du paraminosalicylate d'*iso*nicotylhydrazide. *C. R. Acad. Sci.*, 1953, **236,** 2410-2411.

38. Charonnat R., Fabiani P. & Boime A. — Instabilité des hydrazones de l'*iso*nicotinylhydrazide. Académie de Pharmacie, séance du 1er juillet 1953. *Ann. pharm. franç.*, 1953, **11,** 566.

39. Charonnat R., Lechat P., Chareton J. & Fabiani P. — Recherches sur la nature des chocs provoqués par les injections intraveineuses. Un type de choc à manifestations tardives : le choc carbonyloprive déclenché par l'*iso*nicotylhydrazide et d'autres hydrazides. *Ann. pharm. franç.*, 1953, **11,** 729-734.

40. Chorine V. — Action de l'amide nicotinique sur les bacilles du genre *Mycobacterium*. *C. R. Acad. Sci.*, 1945, **220,** 150-151.

41. Colizzi C. & Garattini S. — Farmaci antitubercolari e metalli pesanti, con particolare riguardo al blocco del rame da parte della *iso*nicotinilidrazina (INI). *Atti. Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1952-1953, **8,** 45-50.

42. Colizzi C. & Garattini S. — Ancora sulla possibilitá di inhibizione *in vitro* della attivitá antibatterica della *iso*nicotinilidrazina (INI). *Atti. Soc. lombarda. Sci. med. biol.*, 1952-1953, **8,** 102-104.

43. Cuthbertson W. F. J., Ireland D. M. & Wolff W. — Detection and identification of some metabolites of *iso*nicotinic acid hydrazide (isoniazid) in human urine. *Biochem. J.*, 1953, **55,** 669-671.

44. Cuthbertson W. F. J. & Ireland D. M. — The detection and identification of *iso*nicotinic acid hydrazide and other tertiary pyridine derivatives. *Biochem. J.*, 1952, **52,** xxxiv.

45. Curtius T. & Struve G. — Hydrazide und Azide organischer Säuren Ueber Benzhydrazid. *J. prakt. Chem.*, 1894, **50,** 295-310.

46. Curtius T. & Trachmann O. — Hydrazide und Azide organischer Säuren; Die drei Mono-Nitrobenzhydrazide. *J. prakt. Chem.*, 1895, **51,** 165-179.

46 bis. Cymerman-Craig J., Willis D., Rubbo S. D. & Edgar J. — Mode of action of *iso*Nicotinic Hydrazide. *Nature*, 1955, **176,** 34-35.

47. Decoux J. & Lequime P. — La vitamine nicotinique peut-elle augmenter la tolérance à la sulfapyridine ? *Le Scalpel*, 1942, **95,** 436.

48. Defranceschi A. & Zamboni V. — Sul dosaggio dell' idrazide dell' acido *iso*nicotinico; Dosaggio chimico dell' idrazide e dei suoi derivati. *Giorn. Biochim.*, 1952, pp. 405-416.

49. Defranceschi A. & Zamboni V. — Identification of two metabolities of isoniazid *iso*nicotinoylglycine and 1-*iso*-nicotinoyl 2-acetylhydrazine by paper chromatography in rat urine. *Biochim. biophys. Acta,* 1954, **13,** 304-305.

50. Deltombe J. — Etude analytique du groupe de l'acide nicotinique. *J. Pharm. Belg.,* 1953, **35,** 59-75.

51. Denigès G. — Nouvelles combinaisons obtenues avec certains sulfites métalliques et l'aniline. *C. R. Acad. Sci.,* 1891, **112,** 802.

Denigès G. — Nouvelles combinaisons obtenues avec les sulfites et les amines aromatiques. *C. R. Acad. Sci.,* 1891, **112,** 870; *Mém. Soc. phys. nat. Bordeaux,* 1891, 4e série, **2,** XXVII.

Denigès G. — Recherches sur les combinaisons de certains sulfites métalliques et de quelques autres sels avec les amines aromatiques primaires. Th. Doct. ès Sc. phys. Paris, 1891, 1 vol., 109 p. Vve Cadoret, édit., Bordeaux.

52. Dister. — *J. Pharm. Belg.,* 1948, **3,** 250. Cité par Braun J. [17].

53. Dolique R., Chauvin A. & Fage R. — Sur l'identification de quelques sulfamides au moyen de la solution de sulfate de cuivre. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier,* 1946-1947, **6,** 81-86.

54. Dolique R. & Mas P. — Propriétés physico-chimiques des sulfamides. II. Etude des dérivés cupriques des sulfamides. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier,* 1952, **12,** 86-92.

55. Domagk G., Behnisch R., Mietzsch F. & Schmidt H. — Ueber eine neue, gegen Tuberkelbazillen *in vitro* wirksame Verbindungsklasse. *Naturwiss.,* 1946, **10,** 315.

56. Domleo A. P. — The Determination of Isoniazid. *J. Pharm. Pharmacol.,* 1953, **5,** 117-118.

57. Doughty J. — Sulfanilamide cyanosis relieved by nicotinic acid. *J. Amer. med. Ass.,* 1940, **114,** 756.

58. Duquenois P. — Combinaisons de l'iodure de cadmium avec les bases hétérocycliques azotées. II. Alcaloïdes. *Analyt. chim. Acta,* 1947, **1,** 50-58.

59. Duval C., Buu-Hoï N. P., Xuong Ng. D. & Jacquinot M. — Etude biochimique et microanalytique de quelques hydrazides tuberculostatiques. *Mickrochim. Acta,* 1953, **3,** 212-219.

60. Efimovsky O. & Rumpf P. — Quelques *iso*nicotinoylhydrazones. *Bull. Soc. chim. France,* 1954, pp. 1401-1404.

61. Eichhorn G. L. & Daves J. W. — The metal complexes of vitamin B_6 and Schiff's base derivatives. *J. Amer. chem. Soc.,* 1954, **76,** 5663-5667.

62. Engelund A., Terp P. & Trolle-Lassen C. — Properties of *iso*nicotinylhydrazide. *Arch. Pharm. chem.*, 1952, **59**, 560; *J. Pharm. Pharmacol.*, 1953, **5**, 121.

63. Fallab S. & Erlenmeyer H. — Zur Kenntnis des *Iso*nikotinsäurehydrazid — Cu complexes. *Experientia*, 1952, **8**, 298.

64. Fallab S. & Erlenmeyer H. — Zur Bestimmung der Bildungkonstanten des Komplexes as *Iso*nicotinsäurehydrazid und Cu^{++}. *Helv. chim. Acta*, 1953, **36**, 6-10.

65. Feigl F. — Spot tests, 2 vol., 518 et 436 p., Elsevier, édit., Amsterdam, 1954, vol. II, p. 356.

66. Feigl F. & Mannheimer W. A. — Notiz zum Nachweis von Hydrazin in der Tüpfelanalyse: II. *Mikrochem., mikrochim., Acta*, 1953, **40**, 355-358.

67. Feigl F., Anger V. & Zappert R. — Ueber die Verwendung von Tüpfelreaktionen zun Nachweis von organischen Verbindungen (V). *Mikrochemie*, 1934, **15**, 190-194.

68. Feneyrou H. — Contribution à l'étude du pouvoir antiseptique de certains dérivés sulfonés du phénol, du thymol et du carvacrol. Thèse Doct. Univ. (Pharmacie), Toulouse, 1951; 1 vol. 93 p. Imp. Moderne, édit., Aurillac, 1951.

69. Fox H. H. — Abstracts 12 th intern. Cong. pure and applied Chem., 1951, p. 299.

70. Fox H. H. — Synthetic tuberculostats. I. Pyridine carboxylic acid derivatives. *J. org. Chem.*, 1952, **17**, 542-546.

71. Fox H. H. — Synthetic tuberculostats. III. *Iso*nicotinaldehyde thiosemicarbazone and some related compounds. *J. org. Chem.*, 1952, **17**, 555-562.

72. Fox H. H. & Gibas J. T. — Synthetic tuberculostats. IV. Pyridine carboxylic acid hydrazides and benzoic acid hydrazides. *J. org. Chem.*, 1952, **17**, 1653-1660.

73. Fox H. H. & Gibas J. T. — Synthetic tuberculostats. V. Alkylidene derivatives of *Iso*nicotinylhydrazine. *J. org. Chem.*, 1953, **18**, 983-989.

74. Foye W. O. & Lange W. E. — Metal chelates of riboflavin. *J. Amer. chem. Soc.*, 1954, **76**, 2199-2201.

74 bis. Gale E. F. — The bacterial amino-acid decarboxylases. *Advanc. Enzymol.*, 1946, **6**, 1-32.

Voir aussi Taylor E. S. & Gale E. F. — Studies on bacterial aminoacid decarboxylases. VI. Codecarboxylase content and action of inhibitors. *Biochem. J.*, 1945, **39**, 52-58.

75. Garattini S. — Su alcune possibilitá di riconoscimento differenziale tra idrazide *iso*nicotinica (INI), acido *iso*nicotinico, *iso*nicotinamide. *Atti Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1951-1952, **7**, 107-109.

76. Garattini S. — Sostanze strutturalmente simile alla *iso*nicotinil idrazina (I. N. I.) attive sui germi a questa resistenti. *Atti Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1952-1953, **8**, 127-129.

77. Garattini S., Grassi C., Mantegazza P., Morvillo V., Tommasini R. & Trabucchi E. — Studi farmacologici sulla idrazide dell'acido *iso*nicotinico. *Atti Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1952, **7**, fasc. spec., 1-19.

78. Garattini S. & Pascoli R. — Sul meccanismo della attività convulsivante della *iso*nicotilidrazina (I. N. I.). *Atti Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1952-1953, **8**, 285-288.

79. Gardner T. S., Smith F. A., Wenis E. & Lee J. — The synthesis of compounds for the chemotherapy of tuberculosis. I. Heterocyclic thiosemicarbazide derivatives. *J. org. Chem.*, 1951, **16**, 1121-1125.

80. Gautier J. A., & Pellerin F. — L'hydrazide nicotinique réactif de la fonction carbonylée. *Chimie analytique*, 1950, suppl., pp. 384-386.

81. Gemeindhardt K. & Rangnick G. F. — Analytik des *iso*-Nicotinsäurehydrazids. *Arzneim. Forsch.*, 1953, **3**, 45-47.

82. Ginoulhiac E. — Come si puó dosare l'idrazide dell'acido *iso*nicotinico (I. A. I.), nei liquidi biologici. *Rass. med. (Milano)*, 1952, **29**, 86-89.

83. Ginoulhiac E. & Tenconi L. T. — Determinazione dell'idrazide *iso*nicotinica e dell'acido nicotinico nei liquidi biologici con la reazione di Koenig. *G. Mal. infett. parassit.*, 1952, **4**, 63-67.

84. Giovanbattista N. & Salud Sangra C. — Some *iso*nicotinoyl hydrazidones. *Rev. Asoc. bioquim. argentina*, 1953, **18**, 222-225; in *Chem. Abstr.*, 1955, **49**, 34 d.

85. Girard A. & Sandulesco G. — New series of reagents for the carbonyl group, their use for extraction of ketonic substances and for microchemical characterisation of aldehydes and ketones. *Helv. chim. Acta*, 1936, **19**, 1095-1107.

86. Goldman D. S. — A spectrophotometric determination of *iso*nicotinic acid hydrazide. *Science*, 1954, **120**, 315-316.

87. Gonnard P. & Glikman G. — Action de l'hydrazide *iso*nicotinique et de composés de structure voisine sur l'oxydation catalytique et enzymatique de la dihydroxyphénylalanine. *Bull. Soc. chim. biol.*, 1955, **37**, 501-510.

88. Grunberg E. & Schnitzer R. C. — Studies on the activity of hydrazine derivatives of *iso*nicotinic acid in the experimental tuberculosis of mice. *Quart. Bull. Sea View Hosp.*, 1952, **13**, 3-11.

89. Guareschi C. & Anichini C. — The antitumoral action of some phosphoriboflavin-metal complexes. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1954, **30**, 752-755; in *Chem. Abstr.*, 1955, **49**, 1971 g.

90. Guirand B. M. & Snell E. E. — Pyridoxal phosphate and metal ions as cofactors for histidine decarboxylase. *J. Amer. chem. Soc.*, 1954, **76**, 4745-4746.

91. Gutmann N., Felton S. & Huenneken F. M. — Effect of *iso*nicotinic hydrazide on enzyme systems. *Biochim. biophys. Acta*, 1954, **14**, 282-283.

92. Halpern B. N. — Toxicité et propriétés physiologiques d'un nouvel agent chimiothérapique de la tuberculose, l'*iso*-nicotylhydrazone de la glucurolactone (I. N. H. G.). *C. R. Soc. Biol.*, 1953, **147**, 397-400.

93. Hughes H. B. — On the metabolic fate of isoniazid. *J. Pharmacol.*, 1953, **119**, 444-452.

94. Ikawa M. & Snell E. E. — Oxidative deamination of amino acids by pyridoxal and metal salts. *J. Amer. chem. Soc.*, 1954, **76**, 4900-4902.

95. Ishikawa M., Sumimoto S. & Tukuyama K. — *Ann. Rep. Shionogi Res. Lab.*, 1953, **3**, 1; cité par Beyermann [16].

96. Jensen L. H. — Crystal structure of *iso*nicotinic acid hydrazide. *Nature*, 1953, **171**, 217.

97. Jensen L. H. — The crystal structure of *iso*nicotinic acid hydrazide. *J. Amer. chem. Soc.*, 1954, **76**, 4663-4667.

98. Junqueira P. B. & Schweigert B. S. — Further studies on the role of vitamin B_6 in the metabolism of tryptophan by the rat. *J. biol. Chem.*, 1948, **174**, 605-610.

99. Justin-Besançon L. — L'amide nicotinique dans les intolérances dues aux sulfamides. *J. Méd. Chir. prat.*, 1943, **114**, 14-18.

100. Kahane E. & Sackur O. — Sur l'analyse des hydrazines pyridine-carboniques. *Ann. pharm. franç.*, 1953, **11**, 175-182.

101. Kelly J. M. & Poet R. B. — The estimation of *iso*nicotinic acid hydrazid (nydrazid) in biological fluids. *Amer. Rev. Tuberc.*, 1952, **65**, 484-485.

102. König W. — Über eine neue, vom Pyridin derivierende Klasse von Farbstoffen. *J. prakt. Chem.*, 1904, **69**, 105-137; voir aussi :

König W. & Becker G. A. — Über den Zusammenhang zwischen Farbe und Konstitution der Pyridinfarbstoffe ans sekundären aromatischen. *J. prakt. Chem.*, 1912, **85**, 353-371.

103. Kourilsky R., Kourilsky S. & Micoulaud S. — Etude expérimentale et clinique d'un produit nouveau résultant de la combinaison de l'isoniazide avec l'acide paraminosalicylique. *Thérapie*, 1954, **9**, 273.

104. Kritzmann M. G. & Samarina O. — Reversible splitting of Glutamic Aminopherase. *Nature*, 1946, **158**, 104.

105. Kuhn R., Wendt G. & Westphal K. — Die Konstitution des Adermins. *Ber.*, 1939, **72**, 310-311.

106. Kushner S., Dalalian H., Cassel R. T., Sanjurjo J. L., Mc Kenzie D. & Subbarow Y. — Experimental chemo-

therapy of tuberculosis. I. Substitued nicotamide. *J. or. Chem.*, 1948, **13,** 834-836.

107. Laiblin R. — Ueber Nicotin und Nicotinsäure. *Ann.*, 1879, **196,** 129-182.

108. Laubie H. — Réaction d'identité et dosage de l'hydrazide *iso*nicotinique. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1952, **90,** 106-108.

109. Laubie H. — Quelques réactions de la vitamine B_6. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1949, **87,** 119-120.

110. Lespagnol A., Schmitt J. & Beerens H. — Etude des dérivés de l'isoniazide. *Bull. Soc. pharm. Lille*, 1955, num. spéc., pp. 30-33.

111. Leuschner F. — Ueber der nachweis einiger *iso*nicotinsäure und nicotinsäure abkömmlinge auf filtrierpapier. *Naturwiss.*, 1953, **21,** 554.

112. Levaditi C., Girard A., Vaisman A. & Ray A. — Etude expérimentale de l'activité antituberculeuse de la β-pyridine aldéhyde thiosemicarbazone. *C. R. Acad. Sci.*, 1950, **231,** 1174-1176.

113. Libermann D., Rist N., Grumbach F., Moyeux M., Gauthier B., Rouaix A., Maillard J., Himbert J. & Cals S. — Etude dans le domaine de la chimiothérapie antituberculeuse. 3e mémoire : Hydrazides et hydrazidones. *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1954, pp. 1430-1443.

114. Lichstein H. C., Gunsalus I. C. & Umbreit W. W. — Function of the vitamin B_6 group : pyridoxal phosphate (codecarboxylase) in transamination. *J. biol. Chem.*, 1945, **161,** 311-320.

115. Logemann W. — Su alcuni sali di acidi alchilsolfonici dell' idrazide *iso*nicotinica. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1952, **7,** 430-434.

116. Logemann W., Defranceschi A. & Zamboni V. — Su alcuni derivati dell' idrazide dell'' acido *iso*nicotinico-Nota III. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1954, **9,** 521-528.

117. Longenecker J. B. & Snell E. E. — A possible mechanism for kynureninase action. *J. biol. Chem.*, 1955, **213,** 229-235.

118. Mantegazza P. & Tommasini R. — Attività antitubercolare di composti aventi qualche analogia strutturale con la *iso*nicotinilidrazide. *Atti. Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1951-1952, **7,** 496-503.

119. Marques-Leal A. & Alves M. A. — Dois novos métodos de doseamento da Isoniazida. *Rev. port. Farm.*, 1952, **2,** 175-179.

120. Mason M. & Berg C. P. — The metabolism of *d* and *l*-tryptophan and *d* and *l*-kynurenine by liver and kidney preparations. *J. biol. Chem.*, 1952, **195,** 515-524.

121. Mc Connel R. B. & Cheetham H. D. — Acute pellagra during isoniazid therapy. *Lancet*, 1952, **2**, 430-434.

122. Mc Kenzie D., Malone L., Kushner S., Oleson J. J. & Subbarow Y. — The effect of nicotinic acid amide on experimental tuberculosis of white mice. *J. Lab. clin. Med.*, 1948, **33**, 1249-1253.

123. Mc Millan F. H., Leonard F., Meltzer R. I. & King J. A. — Antitubercular substances. II. Substitution Products of *Iso*nicotinic hydrazide. *J. Amer. pharm. Ass.*, sc. Ed., 1953, **42**, 457-464.

123 bis. Merck E. — D. R. P., 1922, n° 344.030, cité par Tchitchibabine [186].

124. Messini M. — L'idrazide dell' acido *iso*nicotinico e l'attuale terapià medicamentosa della tuberculosi. *Clin. Terap.*, 1952, **11**, 388.

125. Metzler D. E., Longenecker J. B. & Snell E. E. — Reversible catalytic cleavage of hydroxyamino acids by pyridoxal and metal salts. *J. Amer. chem. Soc.*, 1953, **75**, 2786.

126. Meyer R. — Die Bestimmung von Hydrazinen und Aldehyden sowie deren sulfonsäuren mittels G-orange und chromazonrot A als indicatoren. *Fresenius Z. anal. Chem.*, 1953, **140**, 184-185.

127. Meyer H. & Mally J. — Sur les dérivés hydraziniques des acides pyridine-carboniques. *Monastsh. Chem.*, 1912, **33**, 393-415; in *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1912, **12**, 1375.

128. Meyer & Jacobson. — *Lehrbuch der organischen Chemie*, 1920, **2**, 794; cité par Tchitchibabine [186].

129. Micoulaud M. S. — Propriétés antibiotiques du *para*-aminosalicylate d'isoniazide; étude expérimentale et clinique. Th. doct. méd., Paris, 1954, n° 413, 75 p., 22 pl. h. t., 1 dépl. h. t.

130. Montequi F. — Valoración de la *iso*nicotinilhidrazida. *Ann. R. Soc. esp. Fis. Quim.*, 1952, **48 B**, 883-888.

131. Morand P. & Grimaud L. — Note préliminaire sur le dosage de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique. Application au dosage de l'isoniazide dans les comprimés pharmaceutiques. Acad. de Pharmacie (Paris), séance du 3 décembre 1953. *Ann. pharm. franc.*, 1952, **10**, 730.

132. Morvillo V. & Garattini S. — Metodi per il dosaggio dell' idrazide dell' acido *iso*nicotinico e ricerche sul comportamento di detta sostenza nell' organismo. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1952, **28**, 388-390.

133. Neuss J. D., Seagers W. J. & Mader W. J. — The spectrophotometric and polarographic determination of *iso*nicotinic aci hydrazide. *J. Amer. Pharm. Ass.*, Sc. Ed., 1952, **41**, 670-673.

134. Neuzil E. — Identification microcristalline de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1953, **91**, 122-130.

135. Neuzil E. — Acquisitions récentes dans le domaine des tuberculostatiques de synthèse. *J. Med. Bordeaux*, 1954, **131**, 741-775.

136. Neuzil E. — Les facteurs vitaminiques B_6 (Notions fondamentales et acquisitions récentes). *J. Méd. Bordeaux*, 1954, **131**, 1257-1281.

137. Neuzil E., Breton J. C. & Segonne J. — Le G-orange et le rouge chromazone, réactifs de la fonction hydrazine. *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1954, pp. 438-439.

138. Neuzil E., Breton J. C. & Segonne J. — Travail inédit.

139. Neuzil E. & Segonne J. — Nouvelles réactions de l'*iso*nicotinylhydrazide. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1953, **91**, 258; *ibid.*, 1955, **93**, 3-17.

140. Neuzil E. & Segonne J. — Nouveaux complexes métalliques de l'*iso*nicotinylhydrazide. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1953, **91**, 260.

141. Neuzil E. & Segonne J. — Nouveaux sels organiques de l'*iso*nicotinylhydrazide. *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1954, p. 895.

142. Neuzil E. & Segonne J. — Sels organiques d'isoniazide et d'*iso*nicotinylhydrazidones. *Ann. pharm. franç.*, 1955, sous presse.

143. Nishimura T. — Antituberculous compounds. II. Thiosemicarbazones from benzylidene acetone. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1953, **26**, 253-254; in *Chem. Abstr.*, 1955, **49**, 2358 e.

144. Oechsner de Coninck. — Sur la constitution des bases pyridiques dérivées de la brucine. *Bull. Soc. Chim. Paris*, 1884, 2e sér., **42**, 100-104.

145. Offe H. A., Siefken W. & Domagk G. — Hydrazinderivate aus Pyridincarbonsäuren und Carbonylverbindungen und ihre Wirksamkeit gegenüber *Mycobacterium tuberculosis*. *Z. Naturforsch.*, 1952, **7**, 462-468.

146. Olivard J., Metzler D. E. & Snell E. E. — Catalytic racemization of amino acids by pyridoxal and metal salts. *J. biol. Chem.*, 1952, **199**, 669-674.

147. Ozawa H. & Kiyomoto A. — A new colorimetric determination of *iso*nicotinic acid hydrazid. *J. pharm. Soc. Japan*, 1952, **72**, 1059-1060; *Chem. Abstr.*, 1952, 11047 a.

148. Passedouet H., Fusey P. & Roussos M. — Comportement biochimique de quelques acylhydrazones de la glucurolactone. *Rev. Tuberc.*, 1953, **17**, 784-788.

149. Pegum J. S. — Nicotinic acid and burning feet. *Lancet*, 1952, **263**, 536.

150. Pellerin F. — Les hydrazides dans l'analyse organique fonctionnelle. *Chimie analytique*, 1950, suppl., pp. 93-95.

151. Pesez M. & Petit A. — Recherche et dosage de l'hydrazine. *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1947, pp. 122-123.

152. Poggi A. R., Mattu F., Pirisi R. & Mossa A. — Ricerche sull' idrazide dell' acido *iso*nicotinico. Derivati ottenuti per reazione con alogeno composti e con aldeidi aromatiche. *Rend. Seminario Fac. Sc. Univ. Cagliari*, 1952, **22**, 74-80.

153. Pope H. — Antagonism of isoniazid by certain metabolites. *Amer. Rev. Tuberc.*, 1953, **68**, 938-939.

154. Porcellati G. & Preziosi P. — Accorgimenti di tecnica per lo studio ed il dosaggio dell' I. N. I. e dei suoi prodotti di scissione nei liquidi biologici. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1953, **29**, 269-271.

155. Preziosi P. — Interferenze fra *iso*nicotilidrazide e zuccheri. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1952, **28**, 1288-1290.

156. Preziosi P. — *Iso*nicotilidrazide, polifenolossidasi e rame. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1953, **29**, 998-1001.

157. Rebhun J., Feiberg S. M. & Zeller E. A. — Potentiating effect of iproniazid on action of some sympathicomimetic amines. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 1954, **87**, 218-220.

157 bis. Reilly R. H., Killam K. F., Jenney E. H., Marshall W. H., Tausig T. & Apter N. S. — Convulsant effects of Isoniazid. *J. Amer. med. Ass.*, 1953, **152**, 1317-1321.

158. Rich A. R. & Follis R. H. Jr. — The inhibitory effect of sulfanilamide on the development of experimental tuberculosis in the guinea pig. *Bull. Johns Hopk. Hosp.*, 1938, **62**, 77-84.

159. Rist N. — Action du *p*-aminophénylsulfamide et de la *p*-diaminodiphénylsulfone sur la culture des bacilles tuberculeux des mammifères et des oiseaux. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **130**, 972-975.

160. Rist N., Bloch F., Hamon V. — Action inhibitrice du sulfamide et d'une sulfone sur la multiplication *in vitro* et *in vivo* du bacille tuberculeux aviaire. *Ann. Inst. Pasteur*, 1940, **64**, 203-237.

161. Roberts E. & Frankel S. — γ-aminobutyric acid in brain : its formation from glutamic acid. *J. biol. Chem.*, 1950, **187**, 55-63.

162. Roscoe-Schorlemmer. — *Lehrbuch der organischen Chemie*, 1899, **5**, 114-137 (cité par Tchitchibabine [186]).

163. Roth W. & Erlenmeyer H. — Über die tuberkulostatischen Eigenschaften der Hydrazide der *Iso*nicotinsäure und der Benzoesäure. *Helv. chim. Acta*, 1954, **37**, 95-97.

164. Roux (A.). — L'*iso*nicotinyl hydrazide ou isoniazide. Composition chimique et possibilités réactionnelles. *Lyon pharm.*, 1952, nouvelle série, **3**, 199-218.

165. Sacconi L. — Su alcuni complessi metallici della serie nicotinica. *Ann. Chim. (Rome)*, 1950, **40**, 386-395.

166. Sah P. P. T. — D-glucuronolactone *Iso*nicotinyl Hydrazone. *J. Amer. chem. Soc.*, 1953, **75**, 2512-2513.

167. Sah P. P. T. — Nicotinyl and *iso*nicotinyl hydrazone of pyridoxal. *J. Amer. chem. Soc.*, 1954, **76**, 300.

168. Sah P. P. T. & Hsü C. L. — *p*-Iodobenzohydrazide as a reagent for the identification of aldehydes and ketones. *Rec. Trav. chim.*, 1940, **59**, 349-356.

169. Sah P. P. T. & Li T. T. — *m*-Iodobenzohydrazide as a reagent for the identification of aldehydes and ketones. *J. Chin. chem. Soc.*, 1946, **14**, 24-30.

170. Sah P. P. T. & Peoples S. A. — The antitubercular activity of D-Galacturonic acid *Iso*nicotinyl Hydrazone. *J. Amer. pharm. Ass.*, Sc. Ed., 1953, **42**, 612-613.

171. Sah P. P. T. & Peoples S. A. — *Iso*nicotinyl hydrazidones as antitubercular agents and derivatives for identification of aldehydes and ketones. *J. Amer. pharm. Ass.*, Sc. Ed., 1954, **43**, 513-524.

172. Schaefer W. B. — The effect of ketone compounds on the inhibition of growth of tubercle bacilli by isoniazid *in vitro*. *Amer. Rev. Tuberc.*, 1953, **68**, 273-276.

173. Schales O. & Schales S. S. — Dihydroxyphenylalanine decarboxylase-preparation and properties of a stable dry powder. *Arch. Biochem.*, 1949, **24**, 83-91.

174. Schoog M. — Quantitativen *Iso*nicotinsäurehydrazid-Nachweiss mit 2-4-Dinitrochlorbenzol. *Münch. med. Wschr.*, 1952, **94**, 2135.

175. Schuler W. & Meier R. — Enthemmende Wirkung von Metallen auf die hydrazingehemmte enzymatische Oxydation von Cadaverin. *Arch. exp. Path. Pharmak.*, 1954, **223**, 169-176.

176. Scott P. G. W. — The detection and determination of *iso*nicotinylhydrazide. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1952, **4**, 681-686.

177. Sella F., Bolzoni-Galvini C., Cavalli-Sforza L. L. & De Barbieri A. — Idrazide dell'acido *iso*nicotinico-Spettro di azione *in vitro*. Contributo al mecanismo di azione. *Atti Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1952, **7**, fas. spéc., 74-75.

178. Shchukina M. N., Pershin G. N., Makeeva O. O., Sazonova E. D., Nikitskaya E. S., Yanina A. D. & Yakovleva A. I. — *Iso*nicotinyl hydrazones and their antituberculous activity. *Doklady Acad. Nauk. S. S. S. R.*, 1952, **84**, 981; in *Amer. Rev. Tuberc.*, 1953, **68**, A 22.

179. Sloane-Stanley G. H. — The use of the tyrosine apodecarboxylase of *Streptococcus foecalis* R. for the estimation of codecarboxylase. *Biochem. J.*, 1949, **44**, 567-573.

180. Snell E. E. — The vitamin B_6 group. I. Formation of additional members from pyridoxine and evidence concerning their structure. *J. Amer. chem. Soc.*, 1944, **66,** 2082-2088.

Snell E. E. — The vitamin activities of « pyridoxal » and « pyridoxamine ». *J. biol. Chem.*, 1944, **154,** 313-314; *voir aussi :*

Snell E. E. & Rannefeld A. N. — The vitamin B_6 group. III. The vitamin activity of pyridoxal and pyridoxamine for various organisms. *J. biol. Chem.*, 1945, **157,** 475-489.

181. Snell E. E. — The vitamin B_6 group. IV. Evidence for the occurence of pyridoxamine and pyridoxal in natural products. *J. biol. Chem.*, 1945, **157,** 491-505; *voir aussi :*

Rabinowitz J. C. & Snell E. E. — The vitamin B_6 group. XI. An improved method for assay of vitamin B_6 with *Streptococcus faecalis*. *J. biol. Chem.*, 1947, **169,** 631-642.

182. Snell E. E. — Summary of known metabolic functions of nicotinic acid, riboflavin and vitamin B_6. *Physiol. Rev.*, 1953, **33,** 509-524.

182 bis. Snell E. E. — The vitamin B_6 group. V. The reversible interconversion of pyridoxal and pyridoxamine by transamination reactions. *J. Amer. chem. Soc.*, 1945, **67,** 194-197; *voir également :*

Metzler D. E. & Snell E. E. — Some transamination reactions involving vitamin B_6. *J. Amer. chem. Soc.*, 1952, **74,** 979-983.

183. Snell E. E., Guirard B. M. & Williams R. J. — Occurence in natural products of a physiologically active metabolite of pyridoxine. *J. biol. Chem.*, 1942, **143,** 519-530.

184. Soldi A., Gialdi F. & Ponci R. — Influenza dell' idrazide *iso*-nicotinica sulla ossidazione catalitica della soluzioni di acido ascorbico. I. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1952, **7,** 411-417; *Il Farmaco*, Ed. sc., 1953, **8,** 204-211.

185. Sorkin E., Roth W. & Erlenmeyer H. — Über die Beeinflussung tuberkulostatischer Wirkungen durch Cu^{++}. *Helv. Chim. Acta*, 1952, **35,** 1736-1741.

185 bis. Stiller E. T., Keresztesy J. C. & Stevens J. R. — Sructure of vitamin B_6. *J. Amer. chem. Soc.*, 1939, **61,** 1237-1242.

186. Tchitchibabine A. E. — Hétérocycles hexatomiques avec un atome d'azote. Groupes de la pyridine et de la pipéridine; *in* Grignard V., Dupont G. et Locquin R., Traité de chimie organique, 23 vol., Masson & C^ie^, édit., Paris, 1935-1954, vol. XX, pp. 33-375.

186 bis. Tombeck D. — Recherches sur les composés que forment certains sels métalliques avec des bases organiques et des bases de la série pyridique. *Ann. chim. phys.*, 1900, **21,** p. 383 et p. 433; 1900, **22,** p. 113.

187. Velluz L. & Petit A. — Recherches sur la séparation des

cétostéroïdes. I. Précipitation élective de la Δ_4-androsténédione-3,17 par l'hydrazide nicotinique. *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1945, **12**, 951-952.

188. Velluz L. & Rousseau G. — Recherches sur la séparation des cétostéroïdes. II. Précipitation de la progestérone par le dihydrazide lutidine - 2,6 - dicarboxylique - 3,5. *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1946, **13**, 288.

189. Vilter R. W., Biehl J., Mueller J. F. & Friedman B. I. — Some abnormalities of vitamin B_6 metabolism in human beings. *Fed. Proc.*, 1954, **13**, 776-779.

190. Viollier G., Quiring E. & Staub H. — Einfluss von oral verebreichten *Iso*nicotinsäurehydrazid und dessen *Iso*propylderivat auf den Enzymhaushalt der weissen Ratte. *Helv. chim. Acta*, 1953, **36**, 724-730.

191. Vongerichten E. — Notiz über das Pyridin-α-dinitrophenylchlorid. *Ber.*, 1899, **32**, 2571-2572.

192. Wachsmuth (H.). — Réactions de l'*iso*nicotylhydrazide. *J. Pharm. Belg.*, 1953, **35**, 561-568.

193. Wojahn H. — Zum qualitativen und quantitativen Wachweis von Hydraziden des Pyridins, vorwiegend von *Iso*nikotinsäurehydrazid. *Arzneim. Forsch.*, 1952, **7**, 324-326.

194. Wood W. A., Gunsalus I. C. & Umbreit W. W. — Function of pyridoxal phosphate : résolution and purification of the tryptophanase enzyme of *Escherichia coli*. *J. biol. Chem.*, 1947, **170**, 313-321.

195. Yale H. L., Losee K., Martins J., Holsing M., Perry F. M. & Bernstein J. — Chemotherapy of experimental tuberculosis. VIII. The synthesis of acid hydrazides, their derivatives and related compounds. *J. Amer. chem. Soc.*, 1953, **75**, 1933-1942.

196. Yoneda M. & Asano N. — Competitive action of *Iso*nicotinic acid hydrazide and Pyridoxal in the amino-acid decarboxylation of *Escherichia coli*. *Science*, 1953, **117**, 277-279.

197. Zamboni V. & Defranceschi A. — Identification of *iso*nicotinoylhydrazones of pyruvic acid and α-ketoglutaric acid in rat urine after treatment with *iso*nicotinic acid hydrazid (isoniazid). *Biochim. biophys. Acta*, 1954, **14**, 430-431.

198. Zatman L. J., Colowick S. P., Kaplan N. O. & Ciotti M. M. — The action of nicotinamide and *iso*nicotinic acid hydrazide on diphosphopyridine nucleotidases; a preliminary note. *Bull. Johns Hopk. Hosp.*, 1952, **91**, 211-213.

199. Zeller E. A. & Barsky J. — *In vivo* inhibition of liver and brain monoamine oxidase by 1-*Iso*nicotinyl-2-*iso*propyl Hydrazine. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1952, **81**, 459-461.

200. Zeller E. A., Barsky J., Fouts J. R., Kirchheimer W. F. &

Van Orden L. S. — Influence of *iso*nicotinic acid hydrazid (I. N. H.) and 1-*iso*nicotinyl-2-*iso*propyl hydrazide (I. I. H.) on bacterial and mammalian enzymes. *Experientia,* 1952, **8,** 349-350.

201. Zienty M. F. — Quaternary salts of N'-substituted pyridine-3-sulfonamides. *J. Amer. pharm. Ass.,* 1948, **37,** 97-99.

202. Zincke R. — Ueber Dinitrophenylpyridiniumchlorid und dessen Umwandlungsproducte-Allegemeiner Theil. *Ann.,* 1904, **330,** 361-374.

Zincke R. — Ueber Dinitrophenylpyridinium chloride und dessen Umwandlungsproducte. Experimenteller Theil. *Ann.,* 1905, **333,** 296-345.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 1

PREMIÈRE PARTIE

La découverte des propriétés tuberculostatiques de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique.

DES SULFAMIDES AUX THIOSEMICARBAZONES 9

L'INTRODUCTION DES DÉRIVÉS PYRIDINIQUES ET LA DÉCOUVERTE DE L'I. N. H. 11

QUELQUES CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'ISONIAZIDE 14

DEUXIÈME PARTIE

Intérêt biologique des substances pyridiniques.

L'AMIDE NICOTINIQUE 21

LES FACTEURS VITAMINIQUES B_6 23

TROISIÈME PARTIE

Recherches expérimentales.

CHAPITRE PREMIER. — ACTION DE DIFFÉRENTS ACIDES SUR L'ISONIAZIDE ET QUELQUES COMPOSÉS PYRIDINIQUES 29

Réactivité de l'azote hétérocyclique de la pyridine 29
Réactivité de l'azote hétérocyclique de l'isoniazide 31
Perchlorate de l'hydrazide *iso*nicotinique 33
Nouveaux sels organiques de l'hydrazide *iso*nicotinique. 33
Sulfosalicylates de divers composés pyridiniques 38
Dinitro-2,5-salicylates de divers composés pyridiniques. 40
Conclusions du premier chapitre 40

Pages

CHAPITRE II. — ACTION DE L'HYDRAZIDE *iso*NICOTINIQUE SUR LES COMPOSÉS CARBONYLÉS 41

I. — Diagnose microcristalloscopique de l'isoniazide .. 44

II. — Réactions colorées de l'isoniazide 56

III. — Nouveaux sels organiques d'*iso*nicotinylhydrazidones 59

a) Benzène sulfonates 62

b) *p*-Toluène sulfonates 65

c) *o*-Toluène sulfonates 66

d) *m*-Nitrobenzène sulfonates 67

e) Trichloracétates 67

f) Fluorescence des sels organiques d'*iso*nicotinylhydrazidones 68

g) Sels organiques de l'*iso*nicotinylhydrazidone du *p*-diméthylaminobenzaldéhyde 69

h) Pouvoir tuberculostatique des sels organiques d'*iso*nicotinylhydrazidones 70

i) Sulfosalicylates d'*iso*nicotinylhydrazidones.. 72

j) Action de l'acide dinitro-3,5-salicylique sur le G 605 75

IV. — Action des composés carbonylés sur quelques tuberculostatiques dérivés de l'isoniazide 75

a) *Iso*nicotinylhydrazidone de la glycuronolactone (I. N. H. G. L.) 75

b) Méthane sulfonate sodique de l'*iso*nicotinylhydrazide (I. N. H. M. S.) 76

c) Sel de sodium de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide *m*-formylbenzène sulfonique (G 605) 76

Conclusions du deuxième chapitre 77

CHAPITRE III. — ACTION DES SELS MÉTALLIQUES SUR QUELQUES COMPOSÉS PYRIDINIQUES D'INTÉRÊT BIOLOGIQUE 79

I. — Complexes métalliques de l'*iso*nicotinylhydrazide. 80

a) Action des sels de cuivre 82

b) Action des sels de cobalt 86

c) Action des sels de nickel 89

d) Action des sels de zinc 90

e) Action des sels de manganèse 92

f) Action des sels de cadmium 92

g) Action de divers sels métalliques 94

Action des sels métalliques sur trois dérivés de l'isoniazide 95

Pages

II. — Complexes métalliques de l'amide nicotinique .. 100

a) Action des sels de cuivre 102
b) Action des sels de cobalt 103
c) Action des sels de nickel 104
d) Action d'autres sels métalliques 104
e) Importance des complexes métalliques de l'amide nicotinique 105
f) Complexes métalliques de substances voisines de la nicotinamide 106

III. — Complexes métalliques des facteurs vitaminiques B_6 107

a) Etude potentiométrique des solutions de pyridoxine en présence de sels métalliques 110
b) Préparation du complexe pyridoxine-cuivre. 113
c) Etude spectrophotométrique du complexe cuprique de la pyridoxine 114
d) Etude potentiométrique des solutions de pyridoxamine en présence de sels métalliques 116
e) Intérêt biologique des complexes métalliques des vitamines B_6 117

Conclusions du troisième chapitre 118

Conclusions générales 121

Bibliographie 125

Bordeaux. — Impr. E. Drouillard, 3, place de la Victoire.